

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



TESIS DOCTORAL

CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO DE LA
PARASITOFUNA DE *RANA PEREZI* SEOANE, 1885
(AMPHIBIA: RANIDAE) DE LA PROVINCIA DE ÁVILA

M^a Sonsoles Jiménez Sánchez

Madrid, Septiembre de 1997

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA**

**CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO DE LA
PARASITOFAUNA DE *RANA PEREZI* SEOANE, 1885
(AMPHIBIA: RANIDAE) DE LA PROVINCIA DE ÁVILA**

Memoria que presenta para optar al
grado de Doctor en Farmacia la licenciada
M^a Sonsoles Jiménez Sánchez.

MADRID, SEPTIEMBRE DE 1997

DON ANTONIO R. MARTÍNEZ FERNÁNDEZ, CATEDRÁTICO Y DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA DE LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA U.C.M.

CERTIFICA: Que la Licenciada en Farmacia M^a **Sonsoles Jiménez Sánchez**, ha realizado, bajo la dirección conjunta de los Profs. Drs. **D. Luis Manuel Zapatero Ramos** y **Dña. Catalina Castaño Fernández**, en este Departamento de Parasitología, la Memoria titulada **CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO DE LA PARASITOFUNA DE RANA PEREZI SEOANE, 1885 (AMPHIBIA: RANIDAE) DE LA PROVINCIA DE ÁVILA.**

Y para que así conste, expido y firmo el presente en Madrid, a veintitrés de Septiembre de mil novecientos noventa y siete.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO	1
1.2. OBJETIVOS	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. DESCRIPCION DEL ÁREA GEOGRÁFICA DE DISTRIBUCIÓN DEL HOSPEDADOR	3
2.1.1. SITUACIÓN, EXTENSIÓN Y DIVISIÓN	3
2.1.2. FISIOGRAFÍA, GEOLOGÍA, LITOLOGÍA Y EDAFOLOGÍA	4
2.1.3. HIDROGRAFÍA	4
2.1.4. CLIMATOLOGÍA	5
2.1.5. VEGETACIÓN	5
2.2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DEL HOSPEDADOR	7
2.2.1. CLASE AMPHIBIA	7
2.2.2. ORDEN ANURA	15
2.2.3. Familia Ranidae	19
2.2.4. Subfamilia Raninae	20
2.2.5. Género <i>Rana</i>	20
2.2.6. Especie <i>Rana perezii</i>	21
2.3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DEL VECTOR	25
2.3.1. Familia Glossiphoniidae	25
2.3.1.1. Género <i>Batrachobdella</i>	25
2.3.1.1.1. Especie <i>Batrachobdella algira</i>	25
2.4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE BACTERIAS	27
2.4.1. Familia Anaplasmataceae	27
2.4.1.1. Género <i>Aegyptianella</i>	27
2.4.1.1.1. Especie <i>Aegyptianella bacterifera</i>	28
2.4.1.1.2. Especie <i>Aegyptianella ranarum</i>	29

2.5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE PROTOZOOS	30
2.5.1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE FLAGELADOS	37
2.5.1.1. Familia Retortamonadidae	39
2.5.1.1.1. Género <i>Retortamonas</i>	40
2.5.1.1.1.1. Especie <i>Retortamonas dobelli</i>	41
2.5.1.1.2. Género <i>Chilomastix</i>	42
2.5.1.1.2.1. Especie <i>Chilomastix caulleryi</i>	42
2.5.1.2. Familia Hexamitidae	42
2.5.1.2.1. Subfamilia Hexamitinae	43
2.5.1.2.1.1. Género <i>Hexamita</i>	43
2.5.1.2.1.1.1. Especie <i>Hexamita intestinalis</i>	44
2.5.1.2.1.2. Género <i>Spiromucleus</i>	44
2.5.1.2.1.2.1. Especie <i>Spiromucleus elegans</i>	44
2.5.1.2.1.3. Género <i>Brugeroelleia</i>	45
2.5.1.2.1.3.1. Especie <i>Brugeroelleia algonquinensis</i>	45
2.5.1.2.2. Subfamilia Giardiinae	45
2.5.1.2.2.1. Género <i>Octomitus</i>	46
2.5.1.2.2.1.1. Especie <i>Octomitus neglectus</i>	46
2.5.1.2.2.2. Género <i>Giardia</i>	46
2.5.1.2.2.2.1. Especie <i>Giardia agilis</i>	47
2.5.1.3. Familia Monocercomonadidae	48
2.5.1.3.1. Subfamilia Monocercomonadinae	48
2.5.1.3.1.1. Género <i>Monocercomonas</i>	49
2.5.1.3.1.1.1. Especie <i>Monocercomonas maculatus</i>	50
2.5.1.4. Familia Trichomonadidae	50
2.5.1.4.1. Subfamilia Trichomonadinae	51
2.5.1.4.1.1. Género <i>Trichomitus</i>	52
2.5.1.4.1.1.1. Especie <i>Trichomitus batrachorum</i>	53
2.5.1.4.1.2. Género <i>Tetratrichomonas</i>	54
2.5.1.4.1.2. Especie <i>Tetratrichomonas prowazeki</i>	55
2.5.1.5. Familia Trypanosomatidae	55
2.5.1.5.1. Género <i>Trypanosoma</i>	56
2.5.1.5.1.1. Especie <i>Trypanosoma rotatorium</i>	57
2.5.1.5.1.2. Especie <i>Trypanosoma loricatum</i>	58
2.5.1.6. <i>Incertae sedis</i>	58
2.5.1.6.1. Género <i>Rhizomastix</i>	58

2.5.2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE OPALÍNIDOS	59
2.5.2.1. Familia Opalinidae	60
2.5.2.1.1. Género <i>Opalina</i>	65
2.5.2.1.1.1. Especie <i>Opalina ranarum</i>	66
2.5.2.1.1.2. Especie <i>Opalina obtrigona</i>	67
2.5.2.1.2. Género <i>Cepedea</i>	67
2.5.2.1.2.1. - Especie <i>Cepedea dimidiata</i>	68
2.5.3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE AMEBAS	69
2.5.3.1. Familia Entamoebidae	74
2.5.3.1.1. Género <i>Entamoeba</i>	74
2.5.3.1.1.1. Especie <i>Entamoeba ranarum</i>	75
2.5.3.2. Familia Hartmannellidae	75
2.5.3.2.1. Género <i>Hartmannella</i>	76
2.5.3.2.1.1. Especie <i>Hartmannella vermiformis</i>	76
2.5.3.3. Familia Acanthamoebidae	77
2.5.3.3.1. Género <i>Acanthamoeba</i>	77
2.5.3.4. Familia Vahlkampfiidae	78
2.5.3.4.1. Género <i>Vahlkampfia</i>	78
2.5.3.4.2. Género <i>Naegleria</i>	79
2.5.4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE ESPOROZOOS	80
2.5.4.1. Familia Eimeriidae	85
2.5.4.1.1. Género <i>Eimeria</i>	85
2.5.4.1.1.1. Especie <i>Eimeria prevoti</i>	86
2.5.4.2. Familia Lankesterellidae	87
2.5.4.2.1. Género <i>Lankesterella</i>	87
2.5.4.2.1.1. Especie <i>Lankesterella minima</i>	88
2.5.4.3. Familia Dactilosomatidae	89
2.5.4.3.1. Género <i>Dactylosoma</i>	89
2.5.4.3.1.1. Especie <i>Dactylosoma ranarum</i>	90
2.5.5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE CILIADOS	91
2.5.5.1. Familia Nyctotheridae	95
2.5.5.1.1. Género <i>Nyctotheroides</i>	96
2.5.5.1.1.1. Especie <i>Nyctotheroides cordiformis</i>	96

2.5.5.2. Familia Balantidiidae	97
2.5.5.2.1. Género <i>Balantidium</i>	98
2.5.5.2.1.1. Especie <i>Balantidium duodeni</i>	99
2.5.5.2.1.2. Especie <i>Balantidium entozoon</i>	99
2.5.5.2.1.3. Especie <i>Balantidium elongatum</i>	100
2.5.5.3. Familia Trichodinidae	100
2.5.5.3.1. Género <i>Trichodina</i>	101
2.5.5.3.1.1. Especie <i>Trichodina ranae</i>	102
2.5.6. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE BLASTOCISTIS	103
2.5.6.1. Familia Blastocystidae	105
2.5.6.1.1. Género <i>Blastocystis</i>	105
2.6. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE TREMATODOS	108
2.6.1. Familia Paramphistomidae	109
2.6.1.1. Subfamilia Diplodiscinae	109
2.6.1.1.1. Género <i>Opisthodiscus</i>	110
2.6.1.1.1.1. Especie <i>Opisthodiscus nigrivasis</i>	110
2.6.2. Familia Plagiorchiidae	111
2.6.2.1. Subfamilia Haematoloecinae	113
2.6.2.1.1. Género <i>Haematoloechus</i>	114
2.6.2.1.1.1. Especie <i>Haematoloechus variegatus</i>	114
2.6.2.2. Subfamilia Cephalogoniminae	115
2.6.2.2.1. Género <i>Cephalogonimus</i>	116
2.6.2.2.1.1. Especie <i>Cephalogonimus retusus</i>	116
2.6.3. Familia Gorgoderidae	117
2.6.3.1. Género <i>Gorgodera</i>	118
2.6.3.1.1. Especie <i>Gorgodera amplicava</i>	118
2.6.3.2. Género <i>Gorgoderina</i>	119
2.6.3.2.1. Especie <i>Gorgoderina vitelliloba</i>	120
2.6.4. Familia Telorchidae	120
2.6.4.1. Subfamilia Opisthioglyphinae	121
2.6.4.1.1. Género <i>Opisthioglyphe</i>	122
2.6.4.1.1.1. Especie <i>Opisthioglyphe endoloba</i>	122

2.7. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE NEMATODOS	124
2.7.1. Familia Cosmocercidae	125
2.7.1.1. Subfamilia Cosmocercinae	126
2.7.1.1.1. Género <i>Cosmocerca</i>	127
2.7.1.1.1.1. Especie <i>Cosmocerca ornata</i>	127
2.7.2. Familia Rhabdiasidae	129
2.7.2.1. Género <i>Rhabdias</i>	129
2.7.2.1. Especie <i>Rhabdias bufonis</i>	131
2.7.3. Familia Onchocercidae	132
2.7.3.1. Subfamilia Icosiellinae	133
2.7.3.1.1. Género <i>Icosiella</i>	134
2.7.3.1.1.1. Especie <i>Icosiella neglecta</i>	134
2.7.4. Familia Trichuridae	136
2.7.4.1. Subfamilia Capillariinae	136
2.7.4.1.1. Género <i>Capillaria</i>	139
2.7.4.1.1. Especie <i>Capillaria costacruzi</i>	140
3. MATERIAL Y MÉTODOS	141
3.1. HOSPEDADOR	141
3.1.1. Captura y transporte	141
3.1.2. Mantenimiento en el laboratorio	142
3.2. MATERIAL DE LABORATORIO	142
3.3. TÉCNICAS PARASITOLÓGICAS	142
3.3.1. Necropsia y recogida del material	142
3.3.2. Estudio de los protozoos	143
3.3.2.1. Observaciones en fresco	143
3.3.2.2. Técnicas de tinción	143
3.3.2.3. Técnicas de cultivo	145
3.3.3. Estudio de los trematodos	147
3.3.3.1. Recogida de trematodos	147
3.3.3.2. Fijación y conservación	147
3.3.3.3. Tinción y montaje	147
3.3.4. Estudio de los nematodos	148
3.3.4.1. Recogida de trematodos	148
3.3.4.2. Fijación y conservación	148
3.3.4.3. Aclarado y montaje	148
3.4. MEDICIONES Y CALIBRADO	149
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	150

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	151
4.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE BACTERIAS	153
4.1.1. GENERALIDADES	153
4.1.2. DESCRIPCIÓN DE LAS BACTERIAS ENCONTRADAS	155
4.1.2.1. <i>Aegyptianella bacterifera</i>	155
4.1.2.2. <i>Aegyptianella ranarum</i>	156
4.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE PROTOZOOS	158
4.2.1. GENERALIDADES	158
4.2.2. DESCRIPCIÓN DE LOS PROTOZOOS ENCONTRADOS	162
4.2.2.1. <i>Retortamonas dobelli</i>	162
4.2.2.2. <i>Chilomastix caulleryi</i>	164
4.2.2.3. <i>Hexamita intestinalis</i>	166
4.2.2.4. <i>Spiromucleus elegans</i>	167
4.2.2.5. <i>Brugerialleia algonquinensis</i>	168
4.2.2.6. <i>Octomitus neglectus</i>	170
4.2.2.7. <i>Giardia agilis</i>	172
4.2.2.8. <i>Monocercomonas maculatus</i>	174
4.2.2.9. <i>Trichomitus batrachorum</i>	175
4.2.2.10. <i>Tetratrichomonas prowazeki</i>	177
4.2.2.11. Género <i>Trypanosoma</i>	179
4.2.2.11.1. <i>Trypanosoma rotatorium</i>	183
4.2.2.11.2. <i>Trypanosoma loricatum</i>	185
4.2.2.11.3. <i>Trypanosoma</i> sp.1	186
4.2.2.11.4. <i>Trypanosoma</i> sp.2	188
4.2.2.12. <i>Rhizomastix</i> sp.	189
4.2.2.13. <i>Opalina ranarum</i>	191
4.2.2.14. <i>Opalina obtrigona</i>	192
4.2.2.15. <i>Cepedea dimidiata</i>	193
4.2.2.16. <i>Entamoeba ranarum</i>	195
4.2.2.17. Amebas tipo "limax"	196
4.2.2.18. <i>Eimeria prevoti</i>	198
4.2.2.19. <i>Lankesterella minima</i>	299
4.2.2.20. <i>Dactylosoma ranarum</i>	202
4.2.2.21. <i>Nyctotheroides cordiformis</i>	204
4.2.2.22. <i>Balantidium duodeni</i>	205
4.2.2.23. <i>Balantidium entozoon</i>	206
4.2.2.24. <i>Balantidium elongatum</i>	208
4.2.2.25. <i>Trichodina ranae</i>	209
4.2.2.26. <i>Blastocystis enterocola</i>	211
4.2.3 OTROS PROTOZOOS ENCONTRADOS EN ANFIBIOS IBÉRICOS	213

4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE TREMATODOS	214
4.3.1. GENERALIDADES	214
4.3.2. DESCRIPCIÓN DE LOS TREMATODOS ENCONTRADOS	218
4.3.2.1. <i>Opisthodiscus nigrivasis</i>	218
4.3.2.2. <i>Haematoloechus variegatus</i>	220
4.3.2.3. <i>Cephalogonimus retusus</i>	222
4.3.2.4. <i>Gorgodera amplicaba</i>	224
4.3.2.5. <i>Gorgoderina vitelliloba</i>	226
4.3.2.6. <i>Opisthioglyphe endoloba</i>	228
4.3.3. OTROS TREMATODOS ENCONTRADOS EN ANFIBIOS IBÉRICOS	230
4.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE NEMATODOS	232
4.4.1. GENERALIDADES	232
4.4.2. DESCRIPCIÓN DE LOS NEMATODOS ENCONTRADOS	235
4.4.2.1. <i>Cosmocerca ornata</i>	235
4.4.2.2. <i>Rhabdias bufonis</i>	238
4.4.2.3. <i>Icosiella neglecta</i>	240
4.4.2.4. <i>Capillaria costacruzi</i>	243
4.4.3. OTROS NEMATODOS ENCONTRADOS EN ANFIBIOS IBÉRICOS	245
5. CONCLUSIONES	247
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	249

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

El estudio parasitológico de las ranas en la Península Ibérica se ha realizado, hasta el momento, de un modo parcial, ya que solamente se centraba en los helmintos (trematodos, nematodos o cestodos) pasando por alto el estudio de los protozoos, cuestión que hemos tenido muy en cuenta en la elaboración de esta tesis.

En el Departamento de Parasitología se ha efectuado con anterioridad, un estudio bastante completo de las ranas (*Rana* e *Hyla*) de las Islas Canarias y pensamos que sería importante el estudio comparativo con alguna especie de rana de la Península Ibérica.

Rana perezi era la candidata más adecuada ya que reunía una serie de condiciones idóneas: se trataba de la misma especie estudiada en la Islas Canarias, era la más abundante y, además, no se encuentra protegida por la Ley. Escogimos a la provincia de Ávila por el conocimiento previo de la zona, los frecuentes desplazamientos a ella y su relativa proximidad, que nos permitía realizar las capturas necesarias para el estudio.

Por otra parte, es bien conocido por todos, la amplia aceptación de las “ancas de ranas” como elemento gastronómico. Esto nos hizo pensar que sería interesante observar la posibilidad de que algunos de los parásitos encontrados se hubieran citado en casos de parasitismo humano.

1.2. OBJETIVOS

Los principales objetivos desarrollados en esta Memoria son los siguientes:

1. Aislamiento, identificación y descripción de las especies parásitas encontradas, acompañadas de los estudios biométrico y estadístico y de material iconográfico.
2. Determinación de los niveles de parasitación y un análisis de los aspectos ecológicos en relación con el hospedador (distribución intraorgánica y dinámica estacional de las poblaciones) y en relación con el medio ambiente.
3. Revisión bibliográfica del hospedador y de los grupos de parásitos encontrados, así como la actualización de sus claves taxonómicas.
4. Estudio de las relaciones filogenéticas y zoogeográficas existentes entre los hospedadores de áreas geográficas próximas, con argumentos parasitarios.
5. Discusión global de los resultados que, mediante la integración de todos los datos obtenidos, permitan un mejor conocimiento de las parasitofauna de la rana común de Ávila.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. DESCRIPCION DEL ÁREA GEOGRÁFICA DE DISTRIBUCIÓN DEL HOSPEDADOR

2.1.1. SITUACIÓN, EXTENSIÓN Y DIVISIÓN

Ávila limita al Norte con Valladolid, al Este con Segovia y Madrid, al Oeste con Salamanca y Cáceres, y al Sur con esta provincia extremeña y con Toledo. Se divide en dos regiones: parte norte, que está dentro de la altiplanicie del Duero, y el resto de la provincia, englobada en la Cordillera Central.

Está incluida en la Comunidad Autonómica de Castilla-León junto a León, Burgos, Palencia, Valladolid, Zamora, Salamanca, Segovia y Soria.

Se encuentra situada a 40° 40' 00" de Latitud Norte y a 4° 38' 00" de Longitud Oeste (con referencia al meridiano de Greenwich) y a una altura sobre el nivel del mar de 1.128 metros (provincia española de mayor altitud).

Su superficie alcanza los 804.794 Ha, 56 a, 05 ca y ocupa el lugar 29 entre las provincias españolas, ya que su extensión supone el 1,59 % del total nacional.

Está dividida en 247 municipios, que se agrupan en seis comarcas (Mapa I):

1. Arévalo-Madrigal o Moraña.
2. Ávila.
3. Barco de Ávila-Piedrahita.
4. Gredos.
5. Valle del bajo Alberche.
6. Valle del Tiétar.

En el presente trabajo se han estudiado 5 municipios correspondientes a las dos comarcas siguientes (Mapa II):

1. La Moraña

- 1.1. *San Pedro del Arroyo*:
 - 1.1.1. Río Arevalillo (Foto 1).
 - 1.1.2. Charcas grandes sobre el terreno (Foto 2).
- 1.2. *Albornos* (río Arevalillo) (Foto 3).
- 1.3. *Santo Tomé de Zabarcos* (río Arevalillo) (Foto 4).

2. Ávila

- 2.1. *Niharra* (río Adaja) (Foto 5).
- 2.2. *Marlín* (manantiales naturales) (Foto 6).

2.1.2. FISIOGRAFÍA, GEOLOGÍA, LITOLOGÍA Y EDAFOLOGÍA

El relieve de la provincia de Ávila viene determinado por su gran superficie de sierra al Sur, con terrenos bastantes quebrados entre los cuales se intercalan amplias zonas de valles, y su extensa llanura al Norte, que queda delimitada por la Sierras de Ávila y Ojos Albos. Esta llanura, donde se sitúa la comarca de la Moraña, representa una cuarta parte de la superficie de Ávila y su altitud oscila de Norte a Sur entre los 800 y 1.000 m.

La Comarca natural de Ávila se encuentra situada entre la Sierra de Ávila y la Sierra de La Paramera (en el Sistema Central).

La Sierra está constituida por cuatro cadenas montañosas pertenecientes al Sistema Ibérico (Cordillera Carpetoventónica) que cruza la provincia de Este a Oeste: Sierra de Gredos, Sistema Central, Sierra de Ávila y Sierra de Ojos Albos

Desde el punto de vista geomorfológico, la sierra y la llanura determinan dos amplias zonas geológicas bien diferenciadas:

- Al Sur, sobre la base del zócalo paleozoico de la Meseta, constituida fundamentalmente por rocas plutónicas y metamórficas, se recortan los cuatro sistemas principales de fractura que constituyen el Sistema Central y corresponden a distintas variedades de granito, gneis, pizarra, micacita y cuarcita.
- Los depósitos terciarios de toda la llanura septentrional de la provincia están constituidos fundamentalmente por materiales miocénicos tortoniense que consiste en una formación de tosca estratificación de materiales dendríticos gruesos y lechos de cantos escasamente cementados por grada y arcilla roja, amarillenta y, en algunos casos, blanca. Al ser estos materiales muy permeables, la erosión por las aguas superficiales crea estrechas formas abancadas como puede verse en San Pedro del Arroyo. Estos suelos areno-arcilloso tienen un pH elevado y normalmente muy pobres en nutrientes y materia orgánica.

Los valles actuales de los ríos, que en su mayoría marchan encajados en valles sumamente estrechos, arrastran los materiales que generalmente se sedimentan fuera de la provincia. Las vegas de mayor amplitud se corresponden con el río Adaja y con los afluentes del Tiétar. Sus propiedades se encuentran en estrecha dependencia con la naturaleza y composición de los materiales que arrastran los ríos. Tienen una textura arenoarcillosa y arcillosa. Se localizan sedimentos limo-arenosos, ricos en humus, con alto contenido en elementos nutritivos, de carácter aluvial.

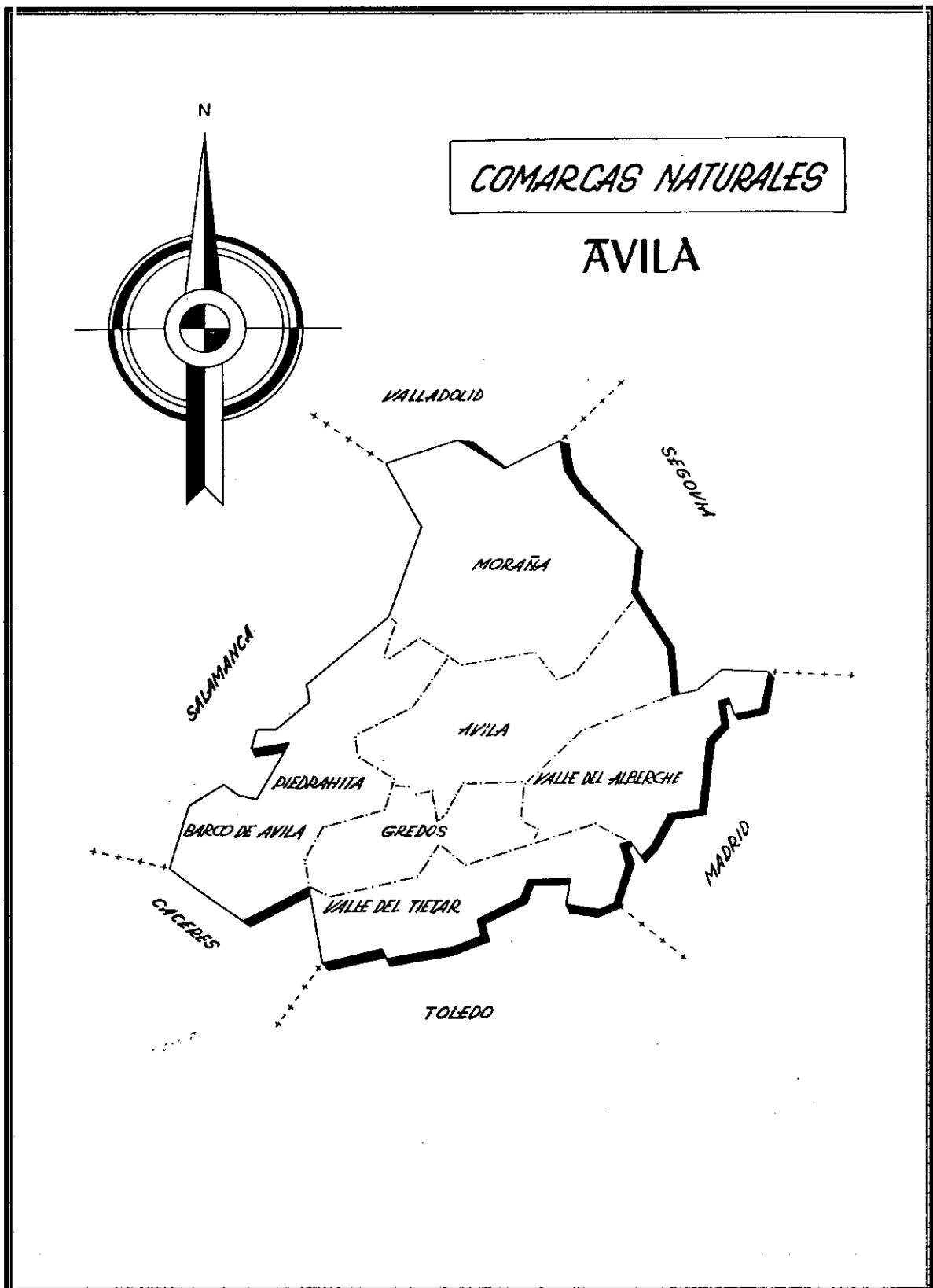
2.1.3. HIDROGRAFÍA

La red hidrográfica de la provincia pertenece a las cuencas del Duero y del Tajo.

- * Los ríos tributarios del Duero (todos ellos por la izquierda) se localizan en la mitad septentrional y son: Voltoya, Adaja, Tormes, Zapardiel y Trabancos.

El río **Adaja** nace en Puerto de Villatoro, sobre la Sierra de Ávila, sube hacia Mingorría, recorre el campo de Pajares y, tras pasar por Arévalo, penetra en Segovia para verter sus aguas en el Duero, al Sur de Simancas. Realiza un recorrido, dentro de la provincia, de 110 km, con una pendiente media del 0,8%. Sus afluentes por la

MAPA I



MAPA II

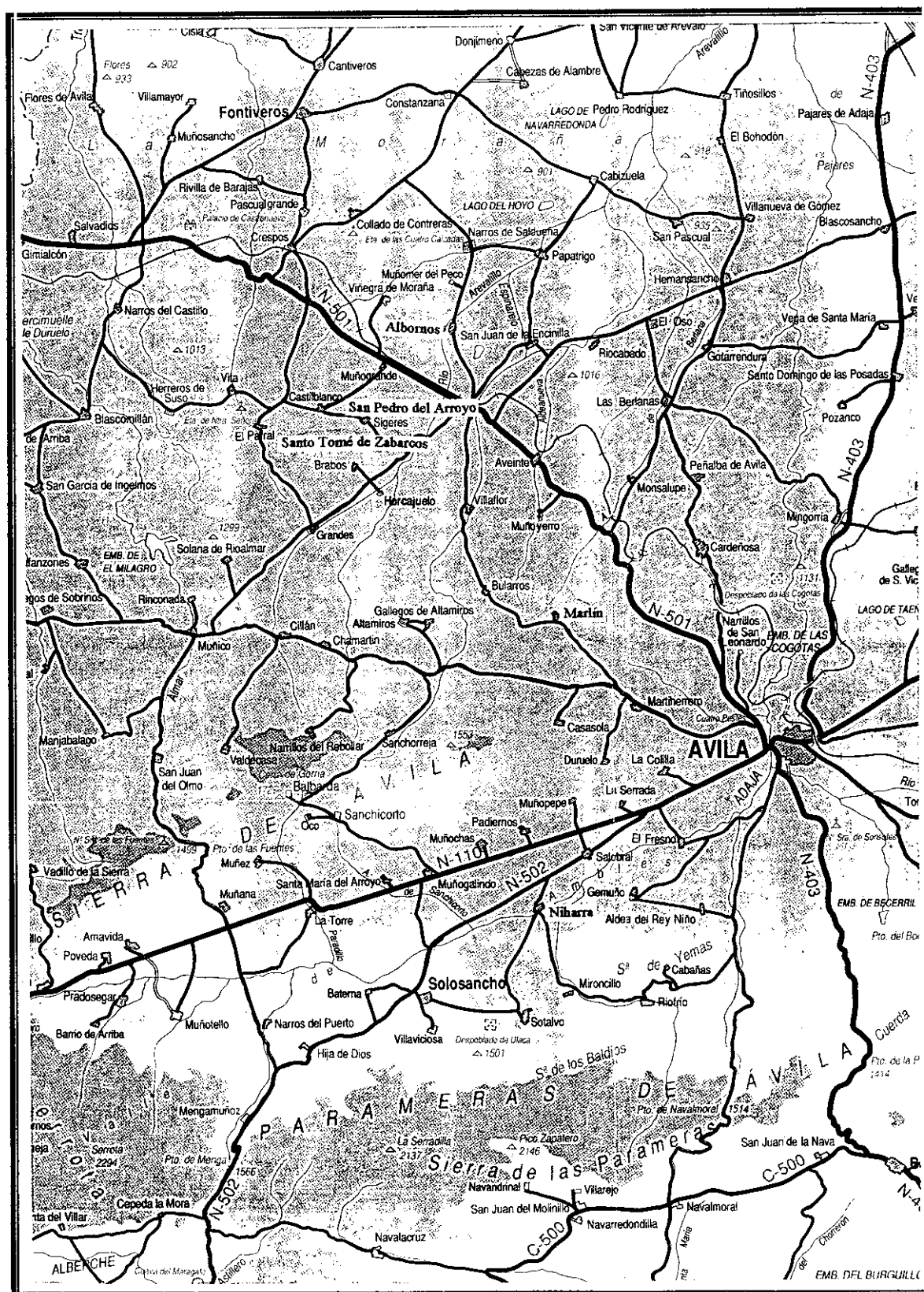




FOTO 1: San Pedro del Arroyo (río Arevalillo).



FOTO 2: San Pedro del Arroyo (laguna).



FOTO 3: Albornos (río Arevalillo).

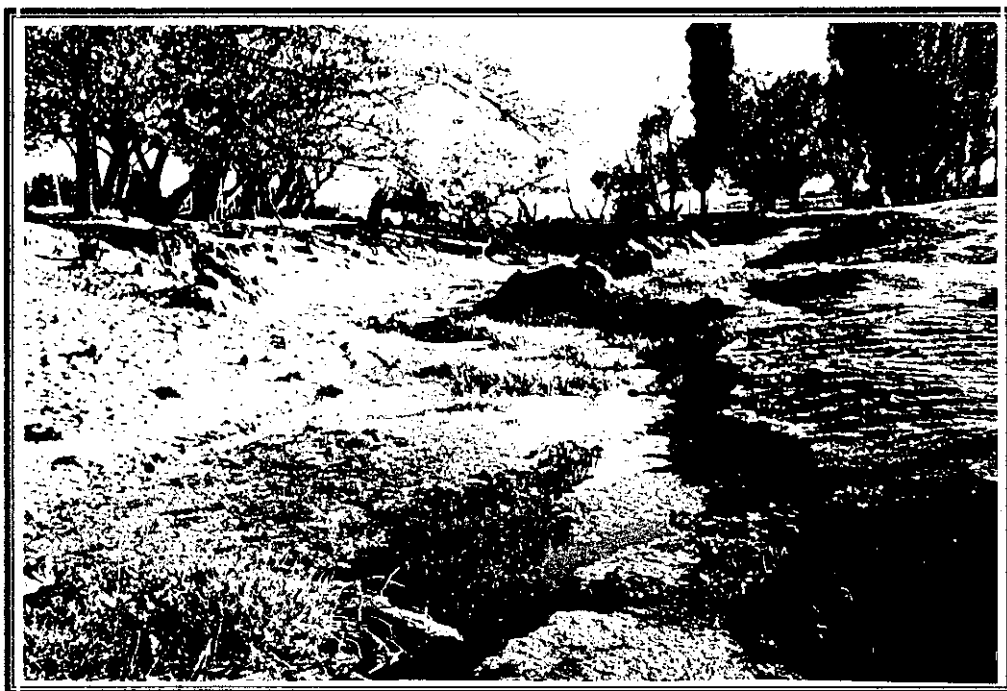


FOTO 4: Santo Tomé de Zabarcos (río Arevalillo).



FOTO 5: Niharra (río Adaja).



FOTO 6: Marlin (manantiales naturales).

derecha son los arroyos de los Tejos, de Canto, de la Garganta, del Gemional y Chico, todos ellos procedentes de la Sierra de La Paramera; su principal afluente por la izquierda con origen en la Sierra de Ávila, aparte de los arroyos de Villagarcía, Pardillo y Sanchicorto, es el Arevalillo.

El río **Arevalillo**, procedente de la Dehesa de Arevalillo de los Toreros, cerca de Sigeres, realiza un recorrido de 40 km, con una pendiente escasa, para desembocar en el Adaja cerca de Arévalo, tras recibir aguas de los ríos Ribondo, Mercero, Chorrillo, Berlanga y Palacios Rubios.

- * Los afluentes más importantes del Tajo, en la provincia de Ávila, son el Alberche y el Tiétar.

En general, dada la configuración de la provincia, encontramos comarcas con agua superficial relativamente abundante como en el Valle del Tiétar, Alberche y Comarca de Gredos y comarcas como la de la Moraña y la de Ávila donde apenas hay agua superficial, pero sí grandes cantidades de agua subterránea.

2.1.4. CLIMATOLOGÍA

En la provincia de Ávila existen tres tipos de climatología:

- * Mediterráneo templado. Es el tipo que caracteriza tanto a la amplia llanura septentrional, con precipitaciones medias anuales generalmente inferiores a los 600 mm³ y altitudes comprendidas entre los 800 y 1.000 m, como gran parte de las depresiones y valles del Sistema Central, donde la pluviometría puede elevarse a 800 y 1.000 mm³.
- * Mediterráneo templado fresco. Este tipo climático es característico de toda las elevaciones y laderas de las sierras de Gredos, Guadarrama, La Paramera y Ávila. Las precipitaciones medias anuales oscilan entre los 1.000 y 1.500 mm³.
- * Mediterráneo subtropical. Este tipo climático caracteriza a una reducida zona del Sur, sobre la comarca del Valle del Tiétar, en su límite con la provincia de Toledo. La pluviometría media anual es, en general, superior a los 1.000 mm³.

2.1.5. VEGETACIÓN

Rivas-Martínez (1975), en el trabajo "Mapa de vegetación de la provincia de Ávila", sigue la nomenclatura y criterios utilizados por O. Bolós (1963), Rivas Goday y Rivas-Martínez (1971) y Rivas-Martínez (1973), los cuales reconocen en la provincia de Ávila cuatro pisos de vegetación, cinco territorios climáticos (es el área en el que una alianza ejerce la función de climax) y siete dominios climáticos (es aquella en la que una asociación ejerce la función de climax). Nuestras zonas pertenecen a:

1. Piso de vegetación **Mediterráneo de meseta** (basal y colino)
 - 1.1. Territorio climático QUERCION FAGINEO-SUBERIS
 - 1.1.1. Dominio climático *Junipero-Quercetum rotundifoliae*
 - 1.1.1.1. Segmento de dominio típico (Municipio de Marlín)
 - 1.1.1.2. Segmento de dominio *pinetosum* (Río Adaja y Arevalillo)

En el dominio típico *Junipero-Quercetum rotundifoliae* (al que pertenece el municipio de Marlin) la vegetación potencial está representado sobre todo por encinares (*Junipero-Quercetum rotundifoliae* Rivas-Martínez, 1964) que llevan en ocasiones enebros (*Juniperus oxycedrus*) al que también está ligado los jarales con cantuesos pedunculados (*Rosmarino-Cistetum ladaniferi typicum* y *cytisetosum scoparii* Rivas-Martínez, 1968) y los matorrales subnitrófilos del *Artemisio-Santolinetum rosmarinifoliae* Costa, 1975.

En la cuenca de los ríos *Adaja* y *Arevalillo* los encinares primitivos cubrieron buena parte de los sedimentos arenosos profundos y al desaparecer estos bosques naturales primitivos y roturarse, muchos de estos suelos se han convertido en arenales (arenosol), que sólo se ha podido repoblar con coníferas (*Pinus pinea* y *P. pinaster*). Forman un segmento de dominio particular: *Junipero-Quercetum rotundifoliae* "*pinetosum*", cuyo valor diagnóstico para este sinecosistema son los cantuesales con cambrones (*Lavandulo-Adenocarpetum aurei* Rivas-Martínez, 1968) y los pastizales subulícolas (*Loeflingio-Malcolmietum patulae* Rivas Goday, 1975).

La vegetación hidrófila encontrada en todas las zonas estudiadas es:

- *Lemna minor* L. (Lemnaceae).
- *Ranunculus saniculifolius* Viv. (Ranunculaceae).
- *Carex divisa* Hudson (Cyperaceae).
- *Glyceria declinata* Bréb. (Gramineae).
- *Eleocharis palustris* (L.) Raemer and Schultes (Cyperaceae).
- *Rorippa nasturtium-aquaticum* (L.) Hayek (Cruciferae).
- *Veronica anagallis-aquatica* L. (Scrophulariaceae).
- *Apium nodiflorum* (L.) Lag. (Umbelliferae).
- *Scirpus holoschoenus* L. (Cyperaceae).
- *Rubus ulmifolius* Schott (Rosaceae).
- *Crataegus monogyna* Jacq (Rosaceae).
- *Sambucus nigra* L. (Caprifoliaceae).
- *Ulmus minor* Miller (Ulmaceae).
- *Populus canadensis* Moench (Salicaceae) Cultivado.

La vegetación del territorio de Marlin es un encinar de *Quercus rotundifolia* Lam. (Fagaceae).

2.2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DEL HOSPEDADOR

2.2.1. CLASE AMPHIBIA LINNAEUS, 1758

“Estos animales asquerosos y repugnantes son aborrecibles debido a su cuerpo frío, color pálido, esqueleto cartilaginoso, sucia piel, aspecto fiero, ojos calculadores, olor ofensivo, voz desagradable, hábitat miserable y terrible veneno; y por tanto su Creador no ha ejercido su poder para hacer a muchos de ellos” Carolus Linnaeus (1758).

Desde las primeras concepciones equivocadas de Linnaeus sobre los anfibios, los biólogos han descubierto que estos animales son de los más fantásticos y numerosos de los vertebrados terrestres. Desde el tiempo de su hazaña extraordinaria de colonizar la tierra en el Devonio, hace unos 350 millones de años, los anfibios han evolucionado en un amplio rango de tipos morfológicos y ecológicos. De echo, los tres grupos vivientes (urodelos, anuros y ápodos) contienen más de 3.900 especies vivas y cada año se descubren especies y géneros nuevos.

CLASIFICACIÓN

- Según Carroll (1979) la clase Amphibia se divide en:
 - Subclase Labyrinthodontia, ordenes: Ichthyostegalia, Temnospondyli y Anthracosauria.
 - Subclase Lepospondyli, ordenes: Aistopoda, Nectridea y Microsauria.
 - Subclase Lissamphibia, ordenes: Apoda, Urodela, Proanura y Anura.
- Según Frost (1985) se divide en:
 - Subclase Lissamphibia Haeckel, 1866
 - * Orden Caudata Oppel, 1811
 - Suborden Karauridae
 - Suborden Sirenoidea
 - Superorden Salientia Laurenti, 1768.
 - * Orden Proanura Romer, 1945
 - * Orden Anura Rafinesque, 1815

Los anfibios actuales pueden diferenciarse, en estado adulto, según tres modelos morfológicos generales:

- **Urodelos:** con cabeza, tronco y región caudal bien diferenciada. Las extremidades anteriores y posteriores son aproximadamente de la misma longitud. A este tipo pertenecen las salamandras y los tritones. En la literatura se pueden encontrar como Urodela o Caudata.
- **Anuros:** sin región caudal diferenciada y con miembros posteriores mucho más largos y desarrollados que los anteriores. Se incluyen en este morfotipo ranas y sapos. Se pueden encontrar como Anura o Salientia.
- **Apodos:** con pérdida de las extremidades y aspecto serpentiforme, como son las cecilias. Se pueden encontrar como Apoda o Gymnophiona.

RESUMEN HISTÓRICO

La biología surgió como una ciencia en el siglo XVII y los anfibios jugaron un papel importante en la investigación. Por ejemplo, la primera descripción de división de un cigoto fue en el huevo de una rana por Jan Swammerdam (1738). Linnaeus en 1758 publicó la décima edición de "Systema Naturae" con la nomenclatura zoológica (en el que se incluía la rana) y ese mismo año, Rösel von Rosenholft (1753-58) publicó una gran ilustración sobre el ciclo de vida de las ranas europeas con especial énfasis en *Rana esculenta* así como la primera documentación detallada de los huevos de los anfibios, larvas acuáticas y transformaciones morfológicas al adulto terrestre.

Durante la segunda mitad del siglo XIX y en el siglo XX, la principal ocupación de los biólogos fue recolectar y clasificar los organismos.

Aunque los fósiles de anfibios recibieron alguna atención en el siglo pasado, la investigación más importante se produce a partir de 1955, de la mano de numerosos investigadores. El punto de partida de las publicaciones de los fósiles incluye el trabajo sobre ranas de Europa en el Terciario, por Spinar (1972) y el libro de bolsillo de fósiles de salamandras y cecilias por Estes (1981).

DISTRIBUCIÓN

Los fósiles y los anfibios vivos están distribuidos ampliamente, excepto en la Antártida (aunque, al menos, al principio del Mesozoico sí existían anfibios), algunas islas oceánicas (principalmente al sur del océano Pacífico) y la mayoría de los desiertos extremos.

Los primeros anfibios aparecieron a principios del periodo Devónico, posteriormente se produce una gran radiación en el Carbonífero, y sólo los pertenecientes a la subclase Lissamphibia sobrevivieron más allá del Jurásico.

El *Triadobatrachus* de Madagascar es considerado como la primera rana pero el primer conocimiento de fósil que incuestionablemente es una rana es *Vieraella* del Jurásico de Argentina. De este periodo hay una gran diversidad de fósiles anuros de Europa, Norteamérica y Sudamérica, por lo tanto se asume que las ranas llegaron a estar muy distribuidas en esta época.

Los leiopelmátidos se consideran los anuros vivos más primitivos. *Vieraella* del Jurásico, *Notobatrachus* en Argentina y las especies vivas de *Ascaphus* en Norteamérica y *Leiopelma* en Nueva Zelanda, muestran evidencias de que las ranas primitivas agrupadas en la familia Leiopelmatidae estaban muy distribuidas antes de la ruptura de la Pangea y que los géneros vivos son reliquias de estos grupos de anuros antiguos (Duellman y Trueb, 1986).

Se conocen más de 3.900 especies de anfibios, de las que unas 45 viven en Europa y 25 en España.

DEFINICIÓN

Los anfibios se incluyen junto con los reptiles, peces, aves y mamíferos en el grupo de los vertebrados, caracterizados por la posesión de un cordón nervioso dorsal protegido por una estructura segmentada en unidades o vértebras y ensanchado en la porción anterior para formar un centro de integración nerviosa, el cerebro, estructura a su vez protegida por el cráneo.

Son intermediarios entre los peces totalmente acuáticos y los amniotas terrestres. Sin embargo no hay una transición sencilla en su morfología, vida, historia, ecología y comportamiento. En el éxito de lograr la independencia del agua y colonización de la tierra, los anfibios han sufrido un marcado grado de adaptación, y los grupos vivientes tienen un mayor grado de diversidad de modos de vida que ningún otro grupo de vertebrados.

El término anfibio puede ser interpretado de dos formas: o como un animal que pasando la mayor parte de su vida en el agua, cambia a un adulto terrestre, o como un animal con vida alternante dentro y fuera del agua. Actualmente ambas interpretaciones son válidas en parte pero ninguna se aplica a todos los anfibios, algunos de los cuales son acuáticos durante toda su vida, pero otros ni entran en el agua, ni tienen estados acuáticos en su ciclo de vida. Por lo tanto, los anfibios pueden ser definidos como vertebrados ectotérmicos (dependencia primaria de fuentes externas de calor para mantener su temperatura corporal), cuadrúpedos (en algunos grupos se han perdido), con dos occipitales en el cráneo y más de una vértebra sacra. La piel es glandular y le faltan estructuras epidérmicas (escamas, plumas, pelo) características de otros grupos de tetrápodos. La estructura interna de los anfibios es intermediaria entre la de los peces y amniotas.

DESCRIPCIÓN

Aunque algunos anfibios paleozoicos eran grandes, la mayoría de los anfibios vivientes son pequeños. La salamandra más grande tiene una longitud de 1.500 mm y la rana más grande, 300 mm.

La piel es desnuda, rica en glándulas mucosas, delgada y permeable, lo que permite a estos animales respirar, en parte, a través de ella. Esta contribución respiratoria (que a veces pasa del 40%) se efectúa en todas las edades, incluso en los adultos terrestres, que procuran mantenerla siempre húmeda. La piel se renueva periódicamente y en general de una sola pieza, mediante un proceso de muda regulado por las secreciones hormonales de las glándulas pituitaria y tiroideas. Durante la muda algunos anfibios se ayudan de sus miembros para liberarse de la piel antigua que, en muchas ocasiones, es engullida posteriormente por el animal. Muchos anfibios están vivamente coloreados gracias a la existencia en la dermis de células pigmentarias que reciben el nombre de cromatóforos.

En cuanto al esqueleto, destacaremos como particularidades el cráneo aplanado, la presencia de dos facetas convexas a los lados del agujero occipital (para unir el cráneo a la columna vertebral) y la falta de caja torácica, dado que las vértebras dorsales no tienen costillas que las unan al esternón. La cintura escapular es sólo un anillo formado

esencialmente por las escápulas, coracoides y clavículas osificadas, y unas piezas esternales cartilaginosas.

En los estados larvarios se desarrollan branquias a ambos lados de la cabeza en forma de estructuras filamentosas ramificadas que permiten el intercambio de oxígeno y anhídrido carbónico entre la sangre que circula por los capilares y el medio líquido que las rodea. En el adulto, los pulmones son simples sacos membranosos carentes de una verdadera tabicación interna con celdillas en su pared, pero los pulmones están reducidos en algunas salamandras y faltan en la familia Plethodontidae. La respiración no se hace mediante un diafragma muscular, sino gracias a los movimientos del suelo de la boca, movimientos pulsatorios que también sirven para intercambiar calor con el exterior. La mucosa bucal y faríngea está muy vascularizada y también contribuye al intercambio respiratorio.

Con respecto al tubo digestivo, las diferentes partes que lo forman (esófago, estómago e intestino) están poco diferenciadas entre sí, desembocando en una cavidad o cloaca donde van a parar los productos sexuales y de excreción. El estómago es muy dilatable. La boca presenta numerosos dientecillos cónicos y articulados que se van reemplazando continuamente, que no sirven para masticar, sólo para sujetar la presa y se implantan en los maxilares y palatino, pero suelen faltar en la mandíbula inferior de los anuros. La lengua es musculosa y muy móvil, y en muchos adultos se recubre de una sustancia que ayuda con su viscosidad a la captura del alimento.

El aparato circulatorio es todavía bastante rudimentario. El corazón consta de cuatro cámaras, que son de anterior a posterior: el seno venoso, la aurícula, el ventrículo y el cono arterial. Normalmente existe un tabique interauricular que diferencia la aurícula derecha de la izquierda. Por el contrario, el ventrículo no está perfectamente tabicado y presenta, a lo sumo, expansiones membranosas en sus paredes internas de manera que existe todavía una mezcla, al menos parcial, de los dos tipos de sangre, venosa y arterial. Se dice por ello que la circulación es doble (circuito pulmonar y circuito del resto del cuerpo) e incompleta. Las arterias aortas son simétricas. Los eritrocitos tienen un núcleo grande, a diferencia de los mamíferos que no lo tienen. El sistema linfático está muy desarrollado.

La estructura de los riñones es bastante primitiva, sobre todo en los estados larvarios. Sin embargo, en el sistema excretor se diferencia a veces una vejiga urinaria que almacena temporalmente la orina antes de ser expulsada al exterior y puede ser reabsorbida en casos de necesidad.

En estado adulto, los anfibios presentan sexos separados. En las hembras, los ovarios pares, se sitúan cerca del riñón sin llegar a comunicarse con él y los oviductos o conductos sexuales femeninos suelen ensancharse distalmente para formar un ovisaco donde se almacenan los huevos antes de la puesta. En los machos, los testículos están en contacto con el extremo anterior del riñón.

La organización general del sistema nervioso de los anfibios es quizás más similar a la de los peces que a la de los restantes grupos de vertebrados. Así, el cerebelo es muy pequeño, el cerebro no presenta pliegues y existen únicamente diez, y no doce, pares de nervios craneales. No obstante, los órganos de los sentidos están, por norma general, bien desarrollados.

Muchos anfibios gozan de una buena visión. La pupila muy dilatada, presenta formas variadas. El cristalino es incapaz de modificar su forma por lo que para enfocar a diferentes distancias debe desplazarse, acercándose o alejándose de la córnea. Las salamandras y anuros tienen barras verdes en la retina de los ojos. La glándula de Harder mantiene, gracias a sus secreciones, la necesaria humedad del ojo, impidiendo así la desecación del mismo.

Los anuros presentan los sistemas de audición más perfeccionados entre los anfibios. Cuando existe, el tímpano se sitúa por detrás del ojo y se diferencia como una membrana circular, más o menos patente a simple vista, que transmite las vibraciones del aire a la cavidad timpánica, espacio situado inmediatamente por detrás de la membrana. A continuación, los sonidos viajan desde la cavidad timpánica hasta el oído interno a través de un único huesecillo, la columela auris. En la mayoría de los urodelos y en ciertos anuros muchas de estas estructuras se reducen considerablemente o desaparecen por completo.

El órgano vomeronasal o de Jacobson, alojado en el paladar, actúa al parecer como canalizador de las sensaciones gustativas, paladeando sustancias retenidas en la boca. Su función es completada por diferentes receptores gustativos de la boca.

El olfato está desarrollado desigualmente en los diferentes grupos y especies de anfibios.

Debido a sus especiales características, la piel de los anfibios es sensible a múltiples estímulos mecánicos, químicos o incluso lumínicos, dada la profusión de células sensoriales que en ella se alojan. Cabe destacar la existencia en algunos anfibios acuáticos y fases larvares de un sistema de receptores conectados a la piel, denominados receptores de la línea lateral, capaces de percibir dentro del agua vibraciones de baja frecuencia.

CICLO BIOLÓGICO

La temperatura de su cuerpo varía con la del ambiente, es decir, tienen lo que se ha venido llamando sangre fría (poiquiloterma). En las regiones cálidas del globo, y especialmente en los trópicos, los anfibios pueden permanecer activos durante todo el año. Sin embargo, en la mayoría de las regiones templadas y frías, así como en las áreas donde existan periodos de acusada sequía, existen ritmos marcados característicos de actividad anual. En principio, las condiciones ectotérmicas obligan a muchas especies a permanecer inactivas durante los meses más fríos del invierno, diciéndose entonces que hibernan (dejan de comer y entran en un periodo de inactividad, con nivel metabólico muy bajo, permaneciendo escondidos en el barro del fondo de las charcas, grietas del suelo o de tocones, etc.). En los tritones esta temporada es necesaria para que maduren las células sexuales.

La falta de humedad también les afecta mucho, por eso suelen hacer vida nocturna, refugiándose durante el día en lugares frescos o sombreados. El peligro de desecación determina que muchos anfibios disminuyan su actividad, en diferente grado según las especies y el área donde vivan, durante los meses más calurosos y secos del año. La inactividad es a veces total, permaneciendo durante algunas semanas enterrados en el barro o al abrigo de un refugio que mantenga la humedad necesaria. Este

fenómeno, se denomina estivación. No obstante, algunas especies pueden vivir en lugares bastante secos (*Bufo calamitas*), regresando al agua durante la reproducción.

Las especies restringen sus actividades reproductoras a las épocas favorables del año, cuando las temperaturas resultan suaves y los índices de pluviosidad son elevados. La mayor parte de las especies de ranas tienen fertilización externa pero en la mayoría de las salamandras y presumiblemente en todas las cecilias (ápodos) tiene fertilización interna.

En el clásico ciclo de vida de los anfibios, los huevos y las larvas son acuáticos aunque hay algunas ranas y salamandras cuyos huevos tienen un desarrollo terrestre (sin estados acuáticos larvarios), presentan ovoviviparidad e incluso viviparidad.

Los huevos suelen ser ricos en vitelo (más denso en uno de los polos) y les falta la cáscara y las membranas embrionarias (amnios, alantoides y corión) de los vertebrados superiores. Tienen una cubierta transparente que se hincha con el agua y se hace gelatinosa, aunque deben desarrollarse en situaciones húmedas, porque estas cubiertas son muy permeables.

En algunas especies, como el sapo partero (*Alytes*) cuidan y transportan los huevos durante su desarrollo embrionario, pero en el resto de las especies son abandonados después de la puesta. La mayoría de los urodelos ponen los huevos aisladamente, de uno en uno, o todo lo más en grupos muy reducidos, sobre las plantas acuáticas o entre las piedras del fondo de las masas de agua donde viven. En contraposición los anuros suelen efectuar puestas más abultadas de varias decenas, centenares o incluso miles de huevos de una sola sentada o tras breves intervalos de descanso. Dependiendo de la especie, los huevos se organizan en paquetes esféricos o irregulares, cordones o grupos aislados que quedan adheridos a la vegetación acuática, flotan o bien caen al fondo de los estanques y arroyos. Una misma hembra puede efectuar una o más puestas al año.

El desarrollo embrionario es normalmente bastante rápido. En los anfibios con larvas acuáticas, la larva que nace del huevo es nadadora y sin patas, teniendo que sufrir diversas metamorfosis para llegar a la forma adulta. A veces se dan casos de neotenia (adultos que pueden reproducirse, pero que conservan algunas características larvarias). En el momento de la eclosión, las larvas o renacuajos presentan habitualmente dos pares de branquias externas a cada lado, la boca y los órganos de la visión que están sin formar mientras que carecen de extremidades. Se caracterizan, no obstante, por la posesión de una cola conspicua. A lo largo del crecimiento de los renacuajos se produce una involución de las branquias externas que acaban siendo sustituidas por otras internas, a la vez que se desarrollan estructuras como el espiráculo, la boca con pico córneo y los miembros, comenzando siempre por los posteriores. Antes de abandonar el agua, para convertirse en individuos juveniles similares ya morfológicamente a los adultos, las larvas sufren un proceso de metamorfosis que conlleva entre otras modificaciones la sustitución de las branquias por pulmones, la reabsorción y pérdida de la cola, la reestructuración de la boca y el acortamiento del segmento intestinal.

La vida media de estos animales se cifra en 4-10 años, pero en algunos zoológicos se han mantenido vivos algunos ejemplares de *Hyla* y *Triturus* durante 20 años.

Son básicamente carnívoros, alimentándose en general de presas vivas y en movimiento: insectos, arañas, gusanos, etc. El tamaño de la presa está relacionado con la talla del depredador. El simple estímulo de un objeto del tamaño adecuado en movimiento, es suficiente muchas veces para desencadenar el ataque por parte del anfibio, independientemente de la naturaleza del objeto.

DEFENSA Y PROTECCIÓN DE LOS ANFIBIOS

En la piel de los anfibios existen glándulas mucosas, aisladas y pequeñas, pero diseminadas por todo el cuerpo, que segregan una sustancia transparente y viscosa, que mantiene resbaladiza la piel y les permite escapar cuando se les agarra. Esta secreción puede irritar las mucosas humanas por contacto, causando, como mucho, lagrimeo, estornudo, picor o escozor de párpados. Otras glándulas son granulosas, grandes, agrupadas en protuberancias (como las alargadas situadas detrás de los ojos en los sapos) o ribetes, y capaces de segregar sustancias tóxicas de aspecto lechoso que son nocivas por vía digestiva para ciertas especies y que les hacen repelentes para ciertos depredadores. Sin embargo, la función principal de estas secreciones glandulares es la defensa de la piel contra los ataques de hongos y bacterias, que encontrarían en ella un medio muy adecuado para su desarrollo si no existieran tales secreciones.

Los anfibios realizan sus actividades en superficies pequeñas, al no realizar apenas desplazamientos, y su principal defensa es pasar desapercibidos escondiéndose o inmovilizándose. La coloración muchas veces es mimética para confundirse con el fondo sobre el que están (*Hyla*). Los colores pueden ser muy diversos y dependen de células pigmentadas o cromatóforos existentes en las capas medias de la piel, o de la difracción de la luz en la epidermis (como es el caso del azul). Hay especies de colores tan variables con la edad, sexo, época de celo, ambiente, temperatura, etc., que es difícil encontrar varios individuos idénticos. Algunos tienen el vientre de color llamativo y pueden exhibirlo levantándose en parte, lo cual quizá sirva como advertencia de alimento desagradable o como reconocimiento específico.

El salto a veces se acompaña de la expulsión de un chorro de orina o agua procedente de la cloaca. Algunos, cuando se ven amenazados, se hinchan de aire al mismo tiempo que se elevan sobre sus miembros con objeto de aparentar mayor tamaño y disuadir de esta forma a sus enemigos de un eventual ataque (*Bufo calamitas*). Otros son capaces de desprenderse de la cola o alguna pata que luego pueden regenerar (*Chioglossa*), pero no tienen otros medios de defensa. Son pues, animales inofensivos.

En algunas ocasiones pueden encontrarse reunidos muchos individuos de la misma especie.

Los enemigos de estos animales son muchos: aves, mamíferos, reptiles y peces, e incluso los renacuajos son atacados por insectos acuáticos carnívoros así como sus larvas (*Ditiscus*). Determinadas especies de anfibios depredan cuando tienen ocasión sobre sus congéneres. Pero estos enemigos naturales son contrarrestados generalmente por la puesta de gran número de huevos.

UTILIDAD PARA EL HOMBRE

Aparte de la comestibilidad de las ancas de ranas y del empleo de estos animales en laboratorios, para pruebas farmacológicas (recordemos el Galli-Mainini para diagnóstico del embarazo) y múltiples ensayos que permitieron grandes descubrimientos biológicos, la mayor utilidad es, sin duda, como auxiliares agrícolas. Su insaciable apetito y el alimentarse de presas vivas les convierte en eficaces destructores de insectos. Para hacerse una idea basta el ejemplo de una hembra de sapo común que capturó durante quince minutos 25 ejemplares de *Leucoma salicis*, mariposa cuya oruga defolia muchos árboles. Muchos países, conocedores de su utilidad en la lucha contra las plagas de los cultivos, han utilizado ciertas especies con este fin, por ejemplo, *Bufo marinus* fue introducido en Florida, Hawai, Haití, Puerto Rico y diversas islas de Oceanía, para eliminar el escarabajo de la caña de azúcar.

Los anfibios son también unos perfectos “bioindicadores”, es decir, termómetros vivos del “estado de salud” de un ecosistema concreto. Si desaparecen, es que algo va muy mal.

ANFIBIOS DE ESPAÑA

El decreto 3181/80, de 30 de diciembre de 1980, publicado en el B.O.E. número 56, de 6 de marzo de 1981, declara protegidas, junto con otros muchos vertebrados, todas las especies de anfibios españoles, excepto *Salamandra salamandra*, *Bufo bufo* y *Rana perezii*.

• Anuros

- *Discoglossus pictus*, *D. galganoi* y *D. jeanneae* (sapillo pintojo).
- *Alytes obstetricans* (sapo partero común)
- *Alytes cisternasii* (sapo partero ibérico)
- *Alytes (baleaphryne) muletensis* (sapillo balear)
- *Pelobates cultripes* (sapo de espuelas).
- *Pelodytes punctatus* (sapillo moteado).
- *Bufo bufo* (sapo común, escuerzo).
- *Bufo calamita* (sapo corredor).
- *Bufo viridis* (sapo verde).
- *Hyla arborea* (ranita de San Antonio).
- *Hyla meridionalis* (ranita meridional).
- *Rana ibérica* (rana patilarga).
- *Rana temporaria* (rana roja o bermeja).
- *Rana dalmantina* (rana ágil).
- *Rana perezii* (rana común).

- **Urodelos**

- *Pleurodeles waltl* (gallipato).
- *Salamandra salamandra* (salamandra común).
- *Chioglossa lusitanica* (salamandra rabilarga).
- *Euproctus asper* (tritón pirenaico).
- *Triturus marmoratus* (tritón jaspeado).
- *Triturus alpestris* (tritón alpino).
- *Triturus helveticus* (tritón palmeado).
- *Triturus boscai* (tritón ibérico).

2.2.2. ORDEN ANURA RAFINESQUE, 1815

Los taxones más altos de los anuros no están bien establecidos. Los actuales conocimientos de algunas características y los cambios de su evolución no han permitido su utilización en la filogenia o la construcción de una clasificación significativa de los anuros. Recientes intentos de clasificación de anuros por Duellman (1975), Laurent (1979) y Dubois (1983) han mantenido grupos parafiléticos. La clasificación de Starrett (1973) basada en las características de las larvas fue disputada por Sokol (1975) en su revaluación de las características de las larvas. Sin embargo se han trasladado algunas subfamilias y géneros de unas familias a otras.

Reig (1958) propuso los nombres Archeobatrachia y Neobatrachia para incluir fundamentalmente a aquellos grupos de anuros referidos a arcaicos o avanzados respectivamente. Noble (1922, 1931) y Lynch (1973) apuntaron que algunas familias podrían ser consideradas como una transición entre las dos categorías. Duellman (1975) empleó la clasificación subordinal de Reig y reconoció seis superfamilias; éstas también fueron usadas por Laurent (1979) y con ligera modificación por Dubois (1983). Sokol (1977) reconoció dos subórdenes: Discoglossoidi y Ranoidei, basándose en los ganglios trigémicos y faciales separados y costillas libres, en el primer caso y en los ganglios fusionados y sin costillas, en el último. Como un compromiso entre la clasificación de Duellman (1975) y Sokol (1977), Laurent (1979) utilizó el nombre subordinal de Mesobatrachia para incluir a parte de las familias arcaicas y de transición. Basado en la aparente diferencia en el desarrollo de los frontoparietales, Rocek (1981) propuso los órdenes Archaeosalientia y Neosalientia (en el que se incluyen las ranas).

DISTRIBUCIÓN

Hay 2.500 especies vivientes de anuros, agrupadas en unos 240 géneros y repartidas por todo el mundo, excepto en las altitudes del Ártico, en la Antártida, algunas islas oceánicas y algunos desiertos extremos. La diversidad más grande de anuros se da en los trópicos. En Europa hay 9 géneros y 26 especies y en España 7 géneros con 17 especies.

DESCRIPCIÓN

Las ranas y sapos son anfibios sin cola y con miembros traseros largos. Los pies están alargados por unos elementos tarsales proximales largos, la tibia y fibula (= astrágalo y calcáneo) están fusionados al menos en la zona proximal y distal. La columna vertebral está formada por 5-9 (normalmente 8) vértebras presacrales. Las costillas están libres o fusionadas y unidas a la segunda, tercera y cuarta vértebra presacral (también la quinta y sexta en algunos) en algunas familias primitivas. Las vértebras postsacrales están fusionadas.

La piel de estos animales está poco adherida a las masas musculares subyacentes y es fina en algunas especies, por lo que la respiración es intensa a través de ella. Hay espacios linfáticos amplios debajo de ella.

Las particularidades esqueléticas principales son: la poca longitud de la columna vertebral (suele tener sólo unas 9 ó 10 vértebras), la soldadura de las vértebras caudales para formar el hueso llamado urostilo, la unión de radio y ulna y de la tibia con la fibula (para formar huesos únicos), y la robusta disposición de la cintura pelviana. Esta cintura está formada por las prolongaciones laterales de la vértebra sacra y los huesos ilíacos, de los cuales el ilion es muy largo. Con tal apoyo y la gran longitud y potencia de las patas posteriores, estos animales pueden dar saltos muy grandes (hasta 2 m en la *Rana dalmatina*). En las especies nocturnas que viven entre vegetales altos y hierbas abundantes, es más usada la marcha, y algunas que tienen el extremo de los dedos ensanchados en ventosas pueden subir por las plantas. En cuanto a la cintura escapular, puede ser firmisterna (epicoracoides unidos sólidamente en el centro del pecho) o arcífera (epicoracoides móviles).

El ojo es esférico y muy manifiesto, con el cristalino también esférico; se ha observado cierta selección preferencial hacia las cosas que se mueven. El músculo retractor del ojo suele ser potente, y en algunas especies puede desplazar el globo ocular hacia la cavidad oral, para ayudar a deglutir mientras se cierran los párpados. El olfato está mejorado por un órgano de Jacobson grande y complejo. En el oído, el tímpano (externo) transmite las vibraciones sonoras a la ventana oval gracias a dos piezas empalmadas llamadas columnela timpánica y plectro. En algunas ranas, antes del desarrollo completo del órgano auditivo, hay cierta conexión entre el oído interno y el pulmón (una varilla o columnela bronquial une la ventana redonda del oído con el dorso del bronquio), con lo que se facilita la percepción de sonidos en el agua.

La lengua es una masa oval, más o menos aplanada, que suele estar sujeta a la parte anterior de la mandíbula inferior, con la punta libre hacia la garganta, por lo que al sacarla tienen que darle la vuelta. Esto se realiza con gran rapidez, disparándola sobre la presa, que suele quedar adherida. El intestino está enrollado y el conducto pancreático, antes de desembocar en él, se une al colédoco.

El aparato reproductor consta en la hembra de: dos ovarios (masas de aspecto granuloso que contienen numerosos óvulos), dos tubos u oviductos delgados con numerosos sinusoides, y sus orificios situados en la cloaca. En los machos los dos testículos son masas ovales pequeñas, amarillentas, con puntos negros, situadas en el interior del abdomen. Los espermatozoides van a través de los rudimentarios riñones, los uréteres o canales de Wolff (que también conducen la orina) hasta la cloaca y las

vesículas seminales contribuyen con su secreción al líquido seminal. En algunos géneros (*Discoglossus* y *Alytes*) no existe relación entre testículo y riñón, pues los espermatozoides van directamente hasta el conducto de Wolff por un conducto especial. Relacionados con ovarios y testículos, se encuentran unas formaciones adiposas, digitiformes y llamativas, denominadas cuerpos amarillos que al parecer desempeñan funciones nutritivas y hormonales.

CICLO BIOLÓGICO

En anuros, la voz constituye uno de los principales medios utilizados por los machos para atraer la atención de las hembras en la estación reproductora que suele ser en primavera, aunque algunas especies también pueden hacerlo en otras estaciones (*Alytes obstetricans*, *Discoglossus pictus*). Cada especie posee una llamada de celo característica que permite que los individuos que pertenecen a la misma especie se identifiquen entre sí. Los cantos son emitidos preferentemente al caer la tarde o durante el día, dependiendo de la especie y la época del año. Pueden formarse así estridentes coros formados por decenas o centenares de machos que pueden oírse a gran distancia. El canto se realiza con la boca cerrada, y se amplifica mediante unas invaginaciones del suelo de la boca que salen por hendiduras laterales como sacos inflables. Estos sacos son de tamaño variable y en algunas especies (*Hyla*, *Bufo*) se unen formando un espacio hinchable bajo la garganta.

La fecundación es externa, excepto en algunos casos. Para ello, el macho monta sobre el dorso de la hembra en una posición denominada de amplexo que puede efectuarse en el agua o bien en tierra. El abrazo, que no es cópula sino acercamiento, se realiza con fuerza, unas veces sujetando a la hembra por las axilas como en *Bufo*, *Hyla* y *Rana* (amplexo axilar) y otras sujetándola por la cintura o región lumbar como en *Alytes*, *Discoglossus*, *Pelobates* y *Pelodytes* (amplexo inguinal). Cuando por algún motivo un macho intenta acoplarse con otro macho, este último suele emitir un sonido característico que advierte a aquél del error. Durante la época de apareamiento, los machos suelen desarrollar rugosidades córneas sobre los dedos más internos de las manos, conocidas con el nombre de callosidades nupciales, que facilitan en cierta forma la sujeción de las hembras durante el amplexo. Pueden desarrollarse igualmente, modificaciones cutáneas en los miembros, garganta y otras regiones del cuerpo de los machos. El abrazo dura un tiempo variable, a veces bastantes días, hasta que la hembra pone los huevos; entonces el macho rocía con su esperma los huevos recién puestos.

Estos huevos son pequeños (1-3 mm) y tienen menos capas membranosas externas (nunca más de 5) que los de los urodelos. El número de huevos depende de la especie, pero normalmente es muy grande, de 400 a 12.000 por hembra y año; son excepcionalmente pocos (10-60) los de las especies que cuidan su puesta (*Alytes*). Suelen estar en grupos y protegidos por una sustancia gelatinosa en el agua.

El modo de vida general pasa por huevos y larvas acuáticas. Podemos señalar algunos modos especiales que incluirían la deposición de huevos fuera del agua pero con renacuajos acuáticos, huevos terrestres que sufren un desarrollo directo, ovoviviparidad, viviparidad y el hecho de que algunos anuros guardan y transportan los huevos o renacuajos.

Desde la puesta del huevo hasta el nacimiento del renacuajo transcurre un cierto tiempo, muy variable según la especie y la temperatura del agua. Como cifras frecuentes podemos dar: 5-6 días en *Rana perezii*, 8 días en *Pelobates* y *Pelodytes*, y 2-3 semanas en *Alytes* y *Bufo*. Al nacer la larva o renacuajo en el agua se sujeta mediante un par de ventosas anteriores a cualquier objeto sólido y allí permanece unos días, alimentándose de los restos de vitelo del huevo. En ese tiempo se alarga la cola, aparecen los ojos, los orificios nasales, la boca y las bolsas branquiales. Después empezará la forma del típico renacuajo, con una masa oval formada por la cabeza y el gran abdomen, así como una cola grande aplanada lateralmente y bordeada por las crestas dorsal y ventral. Recuerdan a los pececillos y su estructura interna es muy sencilla.

El tamaño de los renacuajos depende de la especie (en *Pelobates* puede ser mayor que el adulto) y de las condiciones del medio. Es posible que los individuos grandes segreguen sustancias inhibidoras del crecimiento de los pequeños, por lo que en charcas pequeñas las metamorfosis sucede en oleadas dentro de la misma generación (defensa contra depredadores).

Las branquias son filamentosas y ramificadas y son bazadas por el agua que entra por la boca. Hay dos cámaras formadas al cubrirse las hendiduras branquiales externas por un pliegue de la piel y se comunican entre sí en la línea media. De la cámara izquierda sale un tubo corto o espiráculo hacia el exterior. En otros géneros (*Alytes*, *Discoglossus*) hay una cámara branquial grande que se extiende por los lados, con el espiráculo en línea media.

Los renacuajos pueden aprovechar la menor partícula alimenticia que exista en el agua, vegetal o animal, gracias a una especie de filtro que suelen tener en la cara interna de los arcos branquiales. En la boca hay dos mandíbulas córneas formando pico, y entre ellas y los labios (en los que hay papilas sensoriales) existen filas transversales de dientecillos cuyo número y disposición varía con la especie y son importantes para su identificación. Las filas pueden ser dobles o triples.

La metamorfosis suele durar de 2 a 3 meses y en la fase final el animal no come. Los renacuajos pueden hibernar, pero es rara la especie que está más de 2 años sin metamorfosearse. Los cambios que sufre el renacuajo durante la metamorfosis pueden resumirse así: aparición de las patas posteriores, desaparición de las crestas natatorias, disminución del tamaño de la cola, formación de los miembros anteriores, acortamiento del intestino, ensanchamiento transversal de la boca y aparición de los pulmones. El animal, con la forma ya del adulto, pero mucho más pequeño y con restos de cola (acabará desapareciendo), saldrá del agua de vez en cuando y pasará cada vez más tiempo en el exterior.

2.2.3. FAMILIA RANIDAE GRAY, 1825

Duellman (1975) incluyó a la familia Ranidae en la superfamilia Ranoidea, Suborden Neobatrachia (orden Anura). A esta familia pertenecen las especies de Arthroleptidae y Hemisidae. Laurent (1979) reconoció los hemisinos como una familia separada e incluyó los artroleptinos y astilosterninos en Hyperoliidae y junto con la familia Ranidae, las agrupó en la superfamilia Ranidae, suborden Neobatrachia (orden Anura). Dubois (1981) consideró los artroleptinos y astilosterninos dentro de una familia distinta, Arthroleptidae, afirmó que la sistemática de los ránidos (Ranidae, Rhacophoridae, Hyperoliidae) es un estado de caos e incluyó a esta familia en la superfamilia Ranoidea, Superorden Ranoidei (orden Anura).

El único intento de filogenia es el trabajo de Clarke (1981) sobre los ránidos africanos.

Duellman y Trueb (1986), siguiendo a Frost (1985), adoptan una clasificación bastante tradicional y generalmente siguen la lista de anuros más reciente en el reconocimiento de las familias, con la excepción de que los artroleptinos y hemisinos son mantenidos como una subfamilia de la familia Ranidae más que como una familia separada y no se agrupan en superfamilias.

Diferentes autores reconocen varias subfamilias (Clarke, 1981 y Dubois, 1981). Se han considerado seis, conteniendo 47 géneros vivos con 667 especies y 55 especies son fósiles. Estas subfamilias son:

- Arthroleptinae Mivart, 1869.
- Astylosterninae Noble, 1927.
- Hemisinae Cope, 1867.
- Mantellinae Laurent, 1946.
- Petropedetinae Noble, 1931.
- Raninae (Duellman y Trueb, 1986) Gray, 1825.

Distribución.

La familia es cosmopolita excepto en el Sudeste de Sudamérica, El Oeste de la India, Australia y la mayoría de las islas oceánicas. El rango de la subfamilia Raninae es el mismo que el de la familia. Arthroleptinae, Astylosterninae, Hemisinae y Petropedetinae están restringidas a África Subsahariana y Mantellinae es endémica de Madagascar.

Descripción.

Los miembros de la familia Ranidae presentan 8 vértebras presacrales. El esternón está osificado y los maxilares y premaxilares están dentados en la mayoría de los grupos. El astrágalo y calcáneo están fusionados sólo en el extremo proximal y distal. La pupila es horizontal en la mayoría de los grupos (vertical en astilosterninos y hemisinos). La lengua aparece libre por detrás y es protráctil. Los ganglios trigeminal y facial están fusionados. El amplexus es axilar. Son diploides de 14-54 cromosomas pero algunas especies son poliploides.

Poseen un tamaño y unos hábitos muy variables. Algunas especies son pequeñas (< 50 mm) pero la rana más grande, *Rana goliath*, mide 300 mm. Unos ránidos son

riberaños y tienen pies palmeados (*Occidozyga*, *Ptychadena* y algunas especies de *Rana*), algunos tienen cuerpo robusto, palmeado extenso y viven en y entre los ríos montañosos (*Amolops*, *Petropedetetes*, *Staurois* y algunas especies de *Rana*), los hay que son semejantes a sapos (*Pyxicephalus* y *Tomopterna*), *Hemisus* es un fósil y otros son arbóreos (algunos *Platymantis*).

La mayoría de los ránidos depositan los pequeños huevos pigmentados en aguas tranquilas, que darán lugar a larvas acuáticas del Tipo IV con denticulos y un espiráculo a la izquierda. En varios artroleptinos y petropedetinos así como en algunos ránidos asiáticos (*Ceratobatrachus*, *Discocoetes*, *Palmatorappia* y *Platymantis*) se produce el desarrollo directo de huevos terrestres.

2.2.4. SUBFAMILIA RANINAE GRAY, 1825

Distribución.

La distribución de la subfamilia Raninae es la misma que la de la familia.

Según Duellman y Trueb (1986) a esta subfamilia pertenecen los géneros: *Altirana* Stejneger, 1927, *Amolops* Cope, 1865, *Aubria* Boulenger, 1917, *Batrachylodes* Boulenger, 1887, *Ceratobatrachus* Boulenger, 1884, *Conraua* Nieden, 1908, *Discocoetes* Boulenger, 1918, *Elachyglossa* Andersson, 1916, *Hildebrandtia* Nieden, 1907, *Lanzarana* Clarke, 1983, *Micrixalus* Boulenger, 1888, *Nannobatrachus* Boulenger, 1882, *Nannophrys* Günther, 1869, *Nanorana* Günther, 1896, *Nyctibatrachus* Boulenger, 1882, *Occidozyga* Kuhl y van Hasselt, 1822, *Palmatorappia* Ahl, 1927, *Platymantis* Günther, 1859, *Ptychadena* Boulenger, 1917, *Pyxicephalus* Tschudi, 1838, *Rana* Linnaeus, 1768, *Staurois* Cope, 1865, *Strongylopus* Tschudi, 1838 y *Tomopterna* Duméril y Bibron, 1841.

En España sólo se encuentra un género, *Rana* Linnaeus, 1768.

2.2.5. Género *Rana* Linnaeus, 1768

Sinónimos.

Ranaria Rafinesque, 1814; *Hylarana* Tschudi, 1838; *Limnodytes* Duméril y Bibron, 1841; *Lithobates* Fitzinger, 1843; *Pelophylax* Fitzinger, 1843; *Limnonectes* Fitzinger, 1843; *Hydrophylax* Fitzinger, 1843; *Euphlyctis* Fitzinger, 1843; *Phrynoderma* Fitzinger, 1843; *Zoodioctes* Gistel, 1848; *Amphirana* Aymard, 1855; *Ranula* Peters, 1860; *Dicroglossus* Cope, 1860; *Hydrostentor* Fitzinger, 1861; *Hoplobatrachus* Peters, 1863; *Pohlia* Steindachner, 1867; *Tryphlopsis* Cope, 1868; *Pachybatrachus* Mivart, 1869; *Clinotarsus* Mivart, 1869; *Crotaphitis* Schulze, 1891; *Baliopygus* Schulze, 1891; *Levirana* Cope, 1894; *Babina* Thompson, en Van Denburgh, 1912; *Fejervarya* Bolkay, 1915; *Ranosoma* Ahl, 1924; *Chaparana* Bourret, 1939; *Anchylorana* Taylor, 1942; *Paa* Dubois, 1975.

Distribución.

Es cosmopolita excepto en el Sudeste de Sudamérica y Australia. Se conocen numerosas especies vivientes y fósiles de *Rana* de finales del Terciario y del Cuaternario de depósitos de Europa y Norteamérica. Está formada por 258 especies.

Características.

Presenta una pupila horizontal elipsoidal, un tímpano visible y carecen de glándulas paratoideas.

2.2.6. Especie *Rana perezi* Seoane, 1885 (*Rana* común)

En 1826, Fitzinger describió *Rana hispanica*, en 1882 Camerano *R. esculenta* var. *latastei* del Norte de África y Portugal, y en 1885 López Seoane *R. esculenta perezi* con ejemplares de La Coruña. En el "Atlas Preliminaire des Reptiles et Amphibiens de France" se recogen citas asignadas al complejo *R. esculenta*-*R. lessonae*, situadas cerca de nuestras fronteras, aunque como indica Martínez-Rica estas citas podrían incluirse en las de *R. perezi*.

Durante muchos años fue considerada como una subespecie de *R. ridibunda* Pallas bajo la denominación de *Rana ridibunda perezi*. La elevación a rango de especie de la forma "*perezi*" se ha basado principalmente en las diferencias existentes en los patrones electroforéticos con la forma "*ridibunda*", acompañados por otros rasgos morfológicos secundarios (menor tamaño, miembros posteriores más cortos, el morro más obtuso, el tubérculo metatarsal de menor tamaño y la coloración dorsal más pardusca); aunque ambas especies son muy polimórficas. No obstante, en la actualidad parecen existir en el Norte de la Península núcleos de población que podrían constituir formas híbridas entre *perezi* y *ridibunda*.

Distribución.

Viven en gran parte de Francia y en toda la Península Ibérica excepto en las partes más altas de la mayoría de los sistemas montañosos (en contadas ocasiones pueden alcanzar los 2.000 m). También se encuentran en Baleares y Canarias (introducida hace unos cien años en Tenerife).

Esta especie no se encuentra incluida en el decreto ley de protección. Es muy abundante en la mayoría de las regiones españolas y no parece correr peligro; sin embargo, algunas poblaciones se encuentran con problemas dada la creciente contaminación de los cursos de agua en zonas bajas, el aumento de uso de pesticidas y la eliminación de albercas, charcas y lagunas.

Adulto.

Miden entre 50 y 70 mm desde el extremo del hocico hasta el ano, pero algunas hembras pueden alcanzar los 100 mm. En general, los machos son de menor tamaño que las hembras (Foto 7).

Su piel es lisa o ligeramente verrugosa. Posee dos pliegues glandulares dorsoventrales muy marcados desde el ojo hasta la parte posterior del cuerpo. La

coloración de las partes superiores es en general verdosa, más parda hacia la región posterior del cuerpo. Otros ejemplares son totalmente parduscos o grisáceos y existen individuos totalmente negros, es una de las especies que muestran mayor variabilidad en su coloración. A menudo se presentan series de manchas gruesas redondeadas o rectangulares de color pardo oscuro o negro por la cabeza, dorso y miembros que pueden formar en estos últimos barreados transversales, y que en conjunto presentan tamaño y distribución muy variable. Con cierta frecuencia existe una línea vertebral blanquecina, amarillenta o verdosa. Algunos tienen una estrecha línea negra que atraviesa los orificios nasales y llega hasta los ojos y una banda blanquecina más o menos difuminada sobre la boca, con reflejos metálicos. La piel correspondiente a los sacos vocales de los machos es de tonos grisáceos. La zona ventral es en ocasiones de color blanco inmaculado, otras veces más grisácea con o sin manchas, moteada o jaspeada oscura.

La cabeza es aproximadamente de la misma longitud y anchura, con hocico redondeado o ligeramente puntiagudo. Los ojos, muy grandes y muy salientes, están más juntos dorsalmente que los de las otras ranas. La pupila es ovalada, a veces con el borde inferior anguloso, horizontal al contraerse en ambientes luminosos. El iris es dorado y con pigmentación oscura. El tímpano es algo más pequeño que el ojo, bien visible y con tonos metálicos. No tiene glándulas paratoideas. Presenta dientes maxilares y vomerarios. La lengua es hendida y muy libre. Los machos poseen sacos vocales externos en las comisuras de la boca que incluso desinflados son visibles en forma de pliegues cutáneos.

Los miembros anteriores son robustos, proporcionalmente más grandes en el macho que en la hembra, con 4 dedos libres: el primero es de aproximadamente la misma longitud o sólo algo más largo que el 2º, y el 3º es el más largo. Los tubérculos subarticulares son patentes y sencillos. Los miembros posteriores son largos y fuertes, con 5 dedos y membranas interdigitales extensas, que cubren algo más de las tres cuartas partes de la longitud del dedo más largo. Tiene un tubérculo metatarsiano interno manifiesto, otro externo mucho más pequeño, que se sitúa en la base del 4º dedo y tubérculos subarticulares aparentes y sencillos. Los machos en celo tienen el pulgar mucho más abultado y con rugosidades nupciales negruzcas en su cara interna.

Reproducción.

La madurez sexual se alcanza generalmente al cuarto año. Durante la época de reproducción, los machos cantan tanto de día como de noche, fuera o dentro del agua, formando coros ruidosos que pueden oírse a bastante distancia. Los machos en celo tienen un canto con muchas variantes que suenan a chasquidos o raspados, como “croaa-croaa” y que es distinto según canten fuera o dentro del agua. Las hembras a veces emiten débiles gruñidos.

El anidaje es axilar, suele ser durante la noche y parece tener varios periodos de puesta, aunque la reproducción tiene lugar predominantemente en primavera y otoño, excepto en el Sur de España donde los machos quizás sean capaces de reproducirse durante todo el año a excepción de Julio y Agosto y en las zonas altas de la sierra, donde la puesta comienza en Junio. Para la reproducción utilizan los lugares donde viven habitualmente, sin importarles la falta de vegetación acuática. El tamaño de puesta está

relacionado con el tamaño de la hembra y en general oscila entre 800 hasta varios miles de huevos que son depositados en masas y normalmente entre la vegetación acuática, en la superficie o en el fondo. Los huevos son de color pardo claro, con un polo blanquecino. Su diámetro oscila entre 1 y 2 mm, y el de la cápsula gelatinosa que los envuelve por regla general, entre 7 y 8 mm. La eclosión se produce a los pocos días de efectuar la puesta, entre 5 y 6.

Renacuajos (larvas).

Las larvas que nacen de los huevos miden unos 5-6 mm de longitud, pueden llegar a alcanzar normalmente hasta 60-70 mm de y, a veces, tamaños mucho mayores (más de 90 mm).

El espiráculo está situado a la izquierda de la cabeza y el ano a la derecha de la membrana caudal. La boca está rodeada de papilas excepto en su margen superior. Tienen de 1 a 3 series de denticulos bucales en el labio superior y tres en el inferior; en filas únicas. El borde del labio inferior presenta salientes. Los ojos se sitúan dorsalmente, próximos entre sí.

En los estadios con miembros posteriores reducidos, la cresta dorsocaudal comienza en la parte posterior del cuerpo y en su punto más alto sobrepasa la línea de prolongación del dorso. La cresta está mejor desarrollada dorsal que ventralmente. La longitud de la cola es de aproximadamente el doble de la longitud del cuerpo y su extremo es muy puntiagudo.

La coloración de la parte superior es muy variada, generalmente pardusca, a veces más rojiza, cobriza o verdosa con manchas y reticulados oscuros variables en extensión y puntos blanquecinos que a veces faltan. La cola suele estar manchada de oscuro, en ocasiones formando jaspeados que delimitan puntos u ocelos claros y en las crestas caudales presentan puntos dispersos. En la zona musculosa de la cola se marcan tres líneas longitudinales negras de manchas más o menos continuas. Tienen el vientre muy pigmentado de blanco. Pero el mejor momento para distinguirlos es cuando están próximos a la metamorfosis, cuando ya destacan las manchas negras dorsales y se empieza a marcar la línea medio dorsal verde o amarilla.

El desarrollo larvario tiene una duración variable que va a depender sobre todo de la temperatura del agua y de los recursos alimenticios disponibles, suele durar de 2 a 4 meses y salen del agua con unos 20 mm de longitud (entre 18 y 24,5 mm). Normalmente comienzan a metamorfosearse a finales del verano y continúan durante el otoño, pudiéndose ver en la misma charca ejemplares recién desarrollados y otros que ni siquiera tienen las patas formadas. Algunos pueden pasar el invierno como larvas hasta el año siguiente (por ejemplo, en las zonas altas y de media altitud de las sierras), alcanzando a veces grandes tamaños. Los renacuajos, al final, ya presentan una coloración dorsal parecida a la de los jóvenes, y en muchos se marca la línea lateral verdosa.

Los jóvenes son relativamente grandes y permanecen en las inmediaciones de las charcas, tienen un dorso de coloración similar a la de los adultos, aunque más variable. Algunos autores consideran que la madurez sexual se alcanza a los 4 años y que pueden vivir al menos 10 años.

Ecología.

Es una especie íntimamente ligada a los medios acuáticos, se puede hallar en cualquier punto de agua independientemente de su extensión, desde pequeñas charcas, fuentes, estanques, acequias, pozas y similares, hasta cursos fluviales, lagunas, pantanos y toda la variedad posible de masas acuáticas. Aguanta ciertos niveles de polución y salinidad de al menos el 1 por mil. Vive desde el nivel del mar hasta alturas próximas a los 2.000 m, aunque prefiere y resulta más abundante a baja altitud. Aunque habitualmente no se aleja del agua, en noches húmedas y lluviosas se desplaza por los alrededores de las charcas.

Presenta tanto actividad diurna como nocturna. En zonas cálidas se mantiene en mayor o menor grado durante los meses invernales, pero en el Centro y Norte presenta un periodo de hibernación más o menos dilatado. Generalmente la reactivación en estas zonas se produce en el mes de febrero o marzo, si bien se observan esporádicamente ejemplares activos durante el invierno. También pueden presentar, sobre todo en áreas meridionales, un periodo de estivación, muchas veces obligado, cuando las masas de agua donde habitan se secan completamente. Durante estas fases de interrupción de la actividad continua, permanecen enterradas en el fondo de sus medios acuáticos. Cuando se secan las charcas, los juveniles se concentran bajo las piedras o en las grietas próximas.

Suele pasar la mayor parte del día tomando el sol en las orillas. Cuando éstas son estrechas o pequeñas, suelen situarse unos individuos muy próximos a otros, sobre todo los jóvenes. Estas ranas son muy cautas y a la menor señal de alarma saltan al agua y se sumergen enterrándose en el barro del fondo. Suelen saltar al agua en grupos y no como respuesta a una señal de alarma generalizada que las haría saltar a todas simultáneamente. Nadan muy bien y pueden dar saltos de hasta 2 m. Por la noche también están activas y entonces pueden alejarse bastante del agua. Cantan a cualquier hora del día (sobre todo, al atardecer y de noche) y en cualquier época del año. Emiten un sonido especial cuando son capturadas por algún depredador, y los machos, otro sonido especial de protesta cuando son agarrados por otros machos.

Los adultos y juveniles se alimentan básicamente de artrópodos (insectos y crustáceos de agua dulce), anélidos y moluscos. También se ha mencionado la captura de pequeños vertebrados (peces, roedores y ranitas). En cautividad aceptan gran variedad de insectos y larvas siempre que sean del tamaño adecuado (dípteros, lepidópteros y coleópteros, principalmente), así como lombrices y babosas. Los capturan en el suelo o al vuelo. En el análisis de los tractos digestivos de las larvas, se han hallado algas en el 97,6% de los ejemplares, detritus (96%), arena o tierra (100%), fanerógamas (53,6%), polen (28,2%), hongos (20%), artrópodos (3%) y nematodos (1%).

Las ranas tienen muchos enemigos y ya desde larvas sufren los ataques de numerosos invertebrados como son las larvas de ditisco (*Ditiscus*). Los juveniles y adultos pueden ser consumidos por diversos vertebrados, entre ellos se encuentran las culebras de agua (*Natrix*), numerosas aves (*Tyto alba*, *Athene noctua*, *Buteo*, *Ciconia*, *Ardeola*, etc.) y mamíferos (mustélidos carnívoros). Pero su principal depredador es el hombre pues sus ancas se consumen en muchos lugares de España y también se capturan en grandes cantidades para abastecer a los laboratorios y centros de enseñanza (prácticas de disección).



FOTO 7: Rana perezi Seoane, 1885.

2.3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE LA SANGUIJUELA (VECTOR)

2.3.1. FAMILIA GLOSSIPHONIIDAE

2.3.1.1. Género *Batrachobdella* Viguiet, 1879

Sinónimos: *Batrachobdella* Viguiet, 1879; *Clepsinides* Augener, 1926; *Dundjibdella* Sciacchitano, 1939.

Especie tipo: *Batrachobdella algira* (Moquin-Tandon, 1846) Autrum, 1936.

Lukin y Epstein (1964) han postulado la posibilidad de una incompatibilidad entre *B. algira* y *B. paludosa*, de tal forma que donde se encuentra *B. paludosa* (Europa, Asia y Norteamérica) la otra especie está desplazada. Jiménez y García-Mas (1981) no encontraron ambas especies juntas, pero sí en lugares muy próximos y con características ambientales similares.

2.3.1.1.1. Especie *Batrachobdella algira* (Moquin-Tandon, 1846) Autrum, 1936

Sinónimos: *Halobdella algira*; *Glossiphonia algira* Moquin-Tandon, 1846; Blanchard, 1893; *Clepsine algira* Diesing, 1850; *Batrachobdella latasti* Viguiet, 1879; *Batrachobdella latasti* Viguiet, 1879; *Glossosiphonia algira* Wolterstorff, 1900; *Helobdella algira* Kovalevsky, 1900; *Batrachobdella algira* Johansson, 1926.

Hospedadores: *Hydromantes genei*, *Rana esculenta*, *R. ibérica* y *R. ridibunda*.

Distribución: En localidades circunmediterráneas: Norte de África, Cerdeña, Córcega, Crimea y España, cuya presencia ha sido señalada con anterioridad por:

- Blanchard (1893) recogida sobre *Discoglossus pictus* de Madrid. El autor indica que "... podría deducirse la presencia de esta *Glossiphonia* dondequiera que se encuentre el Batracio indicado, es decir, por lo que a la fauna que estudiamos respecta, en casi toda España, en Portugal y en las Baleares", pero hasta el momento no existe confirmación.
- Jiménez, J.M. y García-Mas, I. (1981) en *Rana ridibunda* de Madrid y *R. ibérica* de Lugo y de La Coruña. También afirman que aunque *Discoglossus pictus* no se encuentra en Baleares, el mayor número de hospedadores para *B. algira*, así como su presencia tanto en otras islas mediterráneas (Córcega y Cerdeña) como en la región gallega, supone un esfuerzo a la hipótesis de Blanchard, pero habrá que esperar datos reales de captura para hablar de la ampliación de la distribución a las Islas Baleares y Portugal.

Descripción.

Estos organismos tienen un cuerpo alargado. La superficie dorsal tiene tres pares de hileras longitudinales de papilas sensoriales. Su color básico es el verde suave y la superficie dorsal está recorrida por 14 bandas longitudinales, pardas, de anchura desigual, que alternan con 13 líneas verdes estrechas. Su longitud es de 7 a 18 mm y su anchura, de 1,5 a 5 mm. La segmentación es: I-III: 1, IV: 2, V-XXIV: 3, XXV-XXVI: 2. La ventosa posterior es pedunculada y con un diámetro próximo, pero menor, al máximo del cuerpo. Tiene dos ojos situados en IIIa₁/a₂. Los poros genitales están separados por dos anillos (según Viguiet, 1879 el macho: XI/XII y la hembra: XIIa₁/a₂ y según Blanchard, 1893 el macho-hembra = 2 ½ y la hembra XIIa₃). Posee siete pares de divertículos gástricos y un anillo postanal. Es un parásito de anfibios y puede encontrarse tanto en aguas corrientes como estancadas.

2.4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE LAS BACTERIAS SANGUÍNEAS

2.4.1. FAMILIA ANAPLASMATACEAE PHILIP, 1957

Esta familia pertenece al orden Rickettsiales y es la única de este orden que posee especies intraeritrocíticas.

Según Kreier y Ristic (1972, 1973) a esta familia pertenecen los géneros *Anaplasma*, *Paranaplasma*, *Aegyptianella*, *Haemobartonella* y *Eperythrozoon*. Todos estos organismos son parásitos obligados con morfología y modo de reproducción similar y afectan a las mismas células hospedadoras (eritrocitos de la sangre). Sus especies infectan a un gran número de rumiantes, aves y ciertos poiquilótermos (Moulder, 1974).

2.4.1.1. Género *Aegyptianella* Carpano, 1928

Sinónimos: *Pirhemocytos*; *Toddia*; *Balbouria* Dschunkowsky, 1937.

El género *Aegyptianella* fue primero caracterizado como un piroplásmido (Lingard y Jennings, 1904; Balfour, 1907) y más tarde como un estado del desarrollo de *Borrelia anserina* (Balfour, 1908, 1911, 1912, 1913, 1914, 1923). Otros autores le interpretaron como coccidio (Laveran, 1907), deformaciones endógenas (Dschunkowsky y Luhs, 1909), degeneraciones del núcleo de los eritrocitos (Hindle, 1911), productos de reacción de los eritrocitos debido a la influencia de toxicidad de las espiroquetas (Dobell, 1812; Gleitsmann, 1913; Knowles y col, 1927, 1932; Marchaux y Chorine, 1933) o como el resultado de intoxicaciones crónicas (Knowles y col, 1932).

Carpano (1928, 1929) le colocó con los hemosporidios, en la clase Sporozoa y le asignó la familia Piroplasmidae. Vio que tenían morfología y características biológicas distintas de los piroplásmidos y creó el nuevo género *Aegyptianella*. Este género fue definido como parásito de los corpúsculos eritrocíticos, de consistencia redonda, oval o piriforme, que no produce pigmentos, se reproduce por esquizogonia y forma más de 20 merozoitos.

Dschunkowsky (1937) sacó al organismo de la familia Piroplasmidae debido a que la esquizogonia no es la característica de las babesias. Aunque, en un principio, estuvo de acuerdo con Wenyon (1926), en que la posición sistemática de estos parásitos no estaba clara y tendrían que ser colocados en "organismos de naturaleza dudosa", después propuso un nuevo género, *Balbouria* y lo retuvo en el suborden Piroplasmidea.

Reichenow (1953), Rousselot (1953), Laird y Lari (1957), Levine (1961), Berson (1964), Cheissin (1965), Corliss (1968) y Soulsby (1968) siguieron la decisión de Carpano y consideraron que *Aegyptianella* era una babesia. Pero, Gothe y Kreier (1977) afirman que las investigaciones en el microscopio electrónico han probado evidencias inequívocas de que *Aegyptianella* no posee las características morfológicas de los

protozoos, sino de bacterias, y además, la multiplicación no es por esquizogonia como previamente había sido considerada, sino por fisiones binarias repetidas. En 1984, Desser y Barta revelan por primera vez la naturaleza de rickettsia de las inclusiones intraeritrocitarias de *R. clamitans* de Canadá.

Inclusiones intraeritrocitarias con cuerpos alargados y teñidos densamente fueron vistas por primera vez hace más de 90 años en los Estados Unidos. Stebbins (1904) describió e ilustró inclusiones similares en eritrocitos de *Rana catesbeiana*, que él confundió con macrogametocitos de hemogregarinas. Más tarde Hegner (1921) observó estos organismos en los glóbulos rojos de *R. catesbeiana* y *R. clamitans* de la misma localidad de Nueva York y las consideró *Cytamoeba bacterifera*. Especuló que este organismo era "un estado de un parásito protozoo y que vivía dentro de él, o como un hiperparásito o como un simbiote, un bacilo llamado *Bacillus krusei*."

También han sido citadas inclusiones intraeritrocitarias en ránidos de África (Dutton y col., 1907) y Madagascar (Brygoo, 1963), hílidos de Europa (Hegner, 1921), leptodáctilos de Brasil (Carini, 1910). Organismos similares han sido citados en *Rana catesbeiana*, *R. clamitans* y *R. septentrionalis* de Canadá (Barta and Desser, 1984) y de *R. clamitans* y *R. catesbeiana* de Estados Unidos (Hegner, 1921). Pero, debido a la limitada resolución del microscopio óptico, la naturaleza de los organismos baciliformes en los primeros artículos no está muy clara.

Según Gothe y Kreier (1977) se han descrito 4 especies en este género: *A. pullorum* Carpano, 1928 (en varias especies de aves), *A. emydis* Brumpt and Lavier, 1935 (en la tortuga *Emys leprosa*), *A. moshlovskii* Schurenkova, 1938 (en varias especies de aves salvajes) y *A. carpani* Battelli, 1947 (en la serpiente *Naia nigricollis*). En 1987, Desser crea la nueva especie *A. ranarum* Desser, 1987 y en 1989, Barta añade la nueva combinación *A. bacterifera* (Labbé, 1894) Barta, 1989 (procedente de *Cytamoeba bacterifera* Labbé, 1894).

2.4.1.1.1. Especie *Aegyptianella bacterifera* (Labbé, 1894) Barta, 1989

Sinónimos: *Cytamoeba bacterifera* Labbé, 1894; *Bacillus krusei* Laveran, 1899.

Hospedadores: *Bufo marinus*, *Rana catesbeiana*, *R. clamitans*, *R. esculenta*, *R. nigromaculata* y *R. ridibunda*.

Localización: Fuera y dentro de los eritrocitos sanguíneos (en vacuolas parasitóforas o libres en el citoplasma).

Distribución: Cosmopolita. No ha sido citado anteriormente en la Península Ibérica.

En 1894, Labbé describe por primera vez en la sangre de *Rana esculenta* inclusiones intraeritrocitarias conteniendo cuerpos alargados y densamente teñidos y les llama *Cytamoeba bacterifera*.

Según Hegner (1921), *Bacillus krusei*, descrito por Laveran (1899), era un hiperparásito de *Cytamoeba bacterifera*, pero más tarde se vio que ambas descripciones corresponden a una misma especie y *Bacillus krusei* pasa a ser un sinónimo de *Cytamoeba bacterifera*.

En 1989, Desser y col. examinan *A. bacterifera* al microscopio electrónico por primera vez y confirman su naturaleza de rickettsia.

Labbé (1894) basó la descripción de *Cytamoeba bacterifera* en la vacuola que rodeaba a las rickettsias y no en el organismo encerrado, pero se retiene el primer nombre posible para estas rickettsias porque la descripción de un organismo existente, se considera una descripción válida de la especie si fue publicada antes de 1931 (ICZN, 1985). Sin embargo, Barta y col. (1989) afirman que este organismo no posee características del género *Cytamoeba* y por lo tanto propone el nombre de *Aegyptianella bacterifera* (Labbé, 1894) nov. comb.

2.4.1.1.2. Especie *Aegyptianella ranarum* Desser, 1987

Hospedadores: *Rana catesbeiana*, *R. clamitans*, *R. mascareniensis* y *R. septentrionalis*.

Localización: Fuera y dentro y de los eritrocitos sanguíneos (en vacuolas parasitóforas o libres en el citoplasma).

Distribución: Cosmopolita. En la Península Ibérica no ha sido mencionado anteriormente.

En 1987, Desser observó organismos baciliformes dentro de unas vacuolas en los eritrocitos de *R. esculenta* y vio que poseían las características típicas de rickettsias incluyendo su ultraestructura, modo de división y localización en vacuola de los eritrocitos, por lo que consideró que pertenecían al género *Aegyptianella*. Pero se dio cuenta de que estas rickettsias eran cuatro veces más pequeñas y más abundantes dentro de cada inclusión que *A. bacterifera* por lo que creó una nueva especie, *A. ranarum*.

El hospedador intermediario y vector en Canadá es la sanguijuela *Batrachobdella picta*, en donde la rickettsia se multiplica.

2.5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE PROTOZOOS

Tradicionalmente los seres vivos se dividían en dos grandes reinos: animal y vegetal, cuyas principales características de diferenciación fueron definidas por Aristóteles en su "Historia de los animales". Dentro de estos reinos, los organismos unicelulares eran designados como protozoos o protofitos dependiendo de si poseían características de animales o vegetales. Estas características son bastante arbitrarias y la clasificación de los dos reinos llegó a ser inaceptable, por las dificultades para encuadrar en uno u otro reino a muchos organismos que se descubrían continuamente, especialmente entre los microscópicos. Owen 1858 crea el reino Protozoa, para encuadrar a estos seres microscópicos y Haeckel (1866) cambió el nombre por el de Protistas. Copeland (1938) añade a los tres anteriores el reino Monera y Whittaker (1957), el reino Fungi, es lo que se conoce como "sistema de los cinco reinos": Monera (bacterias y algas azulverdosas), Protista (protozoos, algas y hongos unicelulares), Fungi (hongos), Metaphyta (Plantae) y Metazoa (Animalia). Y en 1977, Whittaker elaboró una clasificación que consistía en dos superreinos, Prokaryota (con el reino Monera) y Eukaryota (con los reinos: Protista, Animalia, Plantae y Fungi). En 1974, Leedale crea una clasificación con 19 reinos a modo de abanico y en 1993 Cavalier-Smith lo reduce a seis: Prokaryota, Protozoa, Chromista, Plantae, Fungi y Animalia, que están agrupados en imperios: Bacteria y Eukaryota (dividido en dos superreinos: Archezoa y Metakaryota).

Los primeros protozoos fueron vistos por Anthony van Leeuwenhoek en 1674; fue el pionero en la descripción de los "microbios" y ha sido llamado el "padre putativo de la protozoología". Linnaeus incluyó dos especies de protozoos de vida libre en la X edición de 1758 de su "Systema Naturae", pero ninguno era parásito.

Wenyon (1926) atribuye el término "protozoo" a Goldfuss (1817) (del griego prot-primero y zoon-animal) aunque utilizó el término sin una definición o explicación. Afirmó que la clase primera y más baja eran los protozoos, origen de los animales (clase Protozoa). Más tarde fueron incluidos "Medusae", "Lithozoa", "Infusoria" y "Phytozoa" que serán la antesala de los conceptos de Haeckel (1866, 1878) sobre los protistas, que comprende a animales y plantas unicelulares. Owen 1858 eleva Protozoa al rango de reino.

La primera taxonomía monográfica de protozoos fue realizada por Müller en 1773. Usó el término "Animalium infusorium" que incluía a todos los protozoos conocidos y otras formas. Más tarde el término fue "Animalcula infusoria" (Müller, 1786), "Infusionthierchen" (Ehrenburg, 1830 y 1838), y "Animaux infusoires" (Mandl and Ehrenburg, 1839) sin ser ninguno claramente definido, pero incluye al menos: amebas, flagelados, ciliados, algas (verdes y azulverdosas), bacterias, celenterados y rotíferos. La parte adjetival de la frase se ha usado sólo como el nombre de un orden, Infusoria, por Brugière en 1791, como parte de la clase Vermium (gusanos). Dujardin (1841) excluyó los celenterados y rotíferos, dejando sólo a los procariotas y a eucariotas unicelulares o coloniales simples. Dividió la clase Infusoria en cuatro o cinco órdenes (según el texto consultado). A los órdenes no les asignó nombre pero cada uno estaba dividido en una o más familias (20 en total). El primer orden contenía bacterias y

espiroquetas y los otros, protozoos. Dujardin basó la clasificación en tres grupos mayores según los órganos locomotores: amebas, flagelados y ciliados.

Leuckart (1862-1876, 1879-1886) adoptó el término "Protozoa" restringiéndolo sólo a animales unicelulares. En los primeros trabajos Protozoa se dividía en: infusorios, rizópodos y gregarinas; a su vez, los infusorios se dividían en flagelados (Monadina) y ciliados (Holotricha). Más tarde, Leuckart dividió "el subreino Protozoa" en tres clases: Rhizopoda, Sporozoa e Infusoria y éste en dos órdenes: Flagellata y Ciliata; Ciliata, a su vez, se dividía en cuatro grupos llamados: Holotricha, Heterotrichia, Peritricha e Hypotrichia. Lo que parece haber sido *Sarcocystis* fue agrupado de forma separada como "Psorospermien". Después, dividió Psorospermien en: "Psorospermienchlauche" (tubular) y "eiformige Psorospermien" (con forma de huevo), incluyendo posiblemente a *Sarcocystis* y *Eimeria*, respectivamente.

Mientras tanto, Haeckel (1866, 1878) propuso la unión de animales unicelulares (protozoos) y algas unicelulares en un reino, el reino Protista. Incluyó a las bacterias, cianofíceas y a algunos hongos multicelulares. Pero esta propuesta no fue aceptada. Kent (1880-1882) publicó una clasificación más elaborada en la cual las clases se basaban en el tipo de locomoción de los protozoos. Éstas eran: Rhizopoda (con pseudópodos lobulados o radiados), Flagellata (flagelos), Ciliata (cilios) y Tentaculifera (apéndices tentaculados). Dentro de estas clases había 21 órdenes basándose en su área de ingestión. Algunos rizópodos tenían área de ingestión difusa (Pantostomata), mientras que en otros su región era discoidal pero sin constituir una boca (Discotomata). Los flagelados y los ciliados pertenecen a la Eustomata (con una boca simple) y la Tentaculifera constituye la Polystomata (múltiples y distintas áreas ingestivas). Las esponjas simples se incluían entre los flagelados discotomados. Kent construyó un árbol evolutivo donde enfatizó la posición central de las amebas de la cual surgían los otros grupos. Ésto es una variante de la visión actual de considerar el antepasado de los protozoos como, probablemente un ameboflagelado (Corliss, 1960). Kent, al igual que Dujardin, no menciona los esporozoos. El nombre Sporozoa se usó por primera vez en 1879 por Leuckart (según Wenyon, 1926) y el grupo fue colocado en la clasificación propuesta por Bütschli (1880-1882, 1883-1887, 1887-1889) como una clase dentro del filo Protozoa. Las otras clases de Bütschli eran: Sarkodina, Mastigophora e Infusoria.

Doflein (1901), reconociendo que los ciliados diferían de los otros miembros del grupo (por ejemplo, en la posesión de dos núcleos: uno vegetativo y otro reproductivo y en la extensión de su organización cortical), divide a los protozoos en dos subfilos: Ciliophora (ciliados) y Plasmodroma (el resto). El último subfilo incluye las clases: Rhizopoda, Mastigophora y Sporozoa, mientras que Ciliophora comprende solamente la clase Ciliata.

Lankester (1903, 1909) propone una división en diez clases: Proteomyxa, Heliozoa, Mycetozoa, Lobosa, Radiolaria, Foraminifera, Mastigophora, Sporozoa, Ciliata y Acinetaria. No se agrupaban en taxones superiores excepto Ciliata y Acinetaria que se unieron con un grupo distinto pero sin clasificar, "Infusoria o Corticata Heterokaryota". Hartog (en Harmer y Shipley, 1906) reconoce cuatro grupos superiores: Sarkodina, Sporozoa, Flagellata e Infusoria. Todos excepto los flagelados se dividían en otros niveles. Doflein (1916) modificó esta clasificación dividiendo los flagelados (clase Mastigophora) en subclases basados en la nutrición holofítica (Phytomastigina) u

holozoica (Zoomastigina). Originariamente incluyó sólo una subclase (Flagellata), que seguidamente incrementó a tres: Flagellata, Dinoflagellata y Cystoflagellata (Doflein, 1909). Ésto fue adoptado, con pocos cambios, por Wenyon (1926) que introdujo una nueva clase, Opalinata, dentro de Ciliophora, para acomodar a los parásitos del género *Opalina*; elevó Cnidosporidia (tratada por Doflein como un orden de Sporozoa) al rango de clase dentro de Plasmodroma y relegó los otros dos órdenes colocados por Doflein en la subclase Neosporidia (Sarcosporidia y Haplosporidia) a “parásitos de posición indeterminada”. Ésto dejó sólo una clase dentro de los Sporozoa, Telosporidia y por tanto, elevó los dos órdenes que Doflein había incluido en esta clase (Coccidiomorpha y Gregarinida) al rango de subclase (modificando el nombre de la última a Gregarinina). La clasificación de Wenyon permaneció en uso durante muchos años. Sustancialmente, las divisiones principales fueron seguidas por Kudo (1966).

El primer texto español de protozoología fue “Morfología y Biología de los Protozoos” de Fernández Galiano, E. (1921).

En 1963 se creó una asociación de parasitólogos americanos, la “American Association for the Advancement of Science” (Pearse, 1936) para la elaboración de una sistemática, la cual está esencialmente influenciada por las antiguas clasificaciones de Bütschli (1880-1889) y de Doflein (1902). Divide al filo Protozoa en dos subfilos: Plasmodroma (clases: Mastigophora, Sarcodina y Sporozoa) y Ciliophora (clases: Ciliata y Suctoria).

Sin embargo, las teorías de los protozoólogos franceses entre ellos Grassé (1952) diferían bastante de las anteriores. Propuso la unión de flagelados y amebas en un sólo grupo, el subfilo Rhizoflagellata, el cual se dividía en dos superclases: Flagellata y Rhizopoda. Separó las amebas que poseían axópodos en un distinto subfilo, Actinopoda. El resto de los subfilos eran: Sporozoa, Cnidosporidia y Ciliata. La unión de flagelados y amebas fue también adoptado por Corliss (1962) bajo el nombre de Mastigamoebae, que más tarde, en 1968, sustituyó por Sarcomastigophora (la estrecha relación entre amebas y flagelados ya había sido reconocida por Bütschli en 1880, como había indicado en su dendrograma filogenético, reproducido por Corliss, 1960). Corliss (1962, 1968) reconoció otros tres subfilos: Sporozoa, Cnidosporidia (o Cnidospora) y Ciliophora y en 1992 creó una clasificación de los protozoos dividida en 30 filos.

La “clasificación tradicional” basada en la división de Protozoa en dos subfilos: Plasmodroma (conteniendo las clases Mastigophora, Sarcodina y Sporozoa) y Ciliophora estuvo vigente hasta los años sesenta, donde el “Comité de taxonomía y problemas taxonómicos” de la Sociedad de Protozoologistas (Honigberg y col., 1964) elabora una nueva clasificación que constituye la “clasificación moderna”. Recogen numerosas ideas de muchos investigadores pero se pueden apreciar dos influencias importantes: la sistemática de los protozoos de Grassé y la sistemática y filogenia de Chatton y Fauré-Fremiet. No desciende debajo del nivel suborden y su innovación fue adoptar el sistema de terminación uniforme de los nombres de los taxones de rango equivalente, cuya idea fue propuesta originariamente por Pearse en 1936. En esta clasificación figura el conjunto de todos los protozoos bajo la denominación de filo Protozoa, quedando este taxón dividido en cuatro subfilos: Sarcomastigophora, Sporozoa, Cnidospora y Ciliophora.

Los cambios principales fueron:

- Unir las amebas (sarcodínidos) y los flagelados, formando el subfilo Sarcomastigophora.
- Transferir las opalinas del subfilo Ciliophora al subfilo Sarcomastigophora y la clase Piroplasma de Sporozoa a Sarcodina.
- Dividir el taxón de "Sporozoa" en dos subfilos: Sporozoa y Cnidospora.
- Crear la clase Toxoplasmea dentro del subfilo Sporozoa.
- Dividir el subfilo Cnidospora en dos subclases: Myxosporidea y Microsporidea y el subfilo Ciliophora (con una sola clase) en cuatro subclases.

La clasificación de los ciliados fue revisada completamente por Corliss (1961) e incorporada a esta clasificación. Un número (no muy alto) de "amebas-flageladas" convencionalmente colocadas entre los órdenes flagelados y los sarcodínidos son agrupadas en un orden mastigóforo, Rhizomastigida. Esta clasificación fue muy aceptada.

Levine (1973) creó una clasificación siguiendo las propuestas de la Sociedad de Protozoólogos sobre el subfilo Sarcomastigophora pero divergiendo ligeramente en el subfilo Ciliophora y considerablemente en el Sporozoa (=Apicomplexa). El orden Eucoccidiorida incluyó a las familias Plasmodiidae, Toxoplasmatidae, Besnoitiidae y Sarcocystidae. La primera familia pertenecía al suborden Haemosporina, mientras que las tres últimas formaban el suborden Endodyococcidiorida. Esta clasificación sólo presenta la innovación de separar los microsporidios y mixosporidios de los esporozoos y formar dos subfilos: Microspora y Myxospora. También reunió los piroplásmidos con los esporozoos, reteniéndolos en una clase separada, Piroplasma, cuyo ciclo de vida difiere considerablemente de la de los típicos esporozoos (clase Sporozoasida). Utiliza el término Apicomplexa para el subfilo, con la reducción de Sporozoa a clase, dentro del mismo subfilo.

En 1977, Baker realizó otra clasificación también basada en la clasificación de la Sociedad de Protozoólogos. Incorporó dos de las modificaciones de Levine: la separación de los esporozoos, mixosporas y microsporas en tres distintos subfilos y la reunión de los piroplásmidos con los esporozoos. Afirma que los mixosporidios no deberían incluirse en Protozoa, pero son retenidos en este subreino por conveniencia, ya que según Grassé (1960) los mixozoos son organismos pluricelulares. Prefiere el nombre Telosporidia (en lugar de Telosporea) y Sporozoa (por Apicomplexa). Los piroplásmidos son situados en este subfilo en una clase separada y *Toxoplasma* es unido a la tradicional Coccidia en el suborden Eimeriina. Difere de la clasificación de Honigberg en otros tres aspectos: incluye sólo dos órdenes en la clase Gregarinia: Eugregarinida (sin esquizogonias) y Schizogregarinida (con esquizogonias), el orden Haplosporea es transferido provisionalmente al subfilo Microspora y la división del orden Myxosporida es diferente. También se descubre que varios géneros incluidos anteriormente en Protozoa y normalmente atribuidos a Sporozoa, son procariotas: *Grahamella* y *Bartonella* (Eubacteriales), *Anaplasma*, *Eperythrozoon*, *Haemobartonella* y *Aegyptianella* (Rickettsiales).

Al cabo de dieciséis años, un Comité similar de la misma "Society of Protozoologists" se reunió para deliberar sobre la clasificación de los protozoos y redactar una nueva clasificación. El Comité cambió de nombre y de composición: "Comité de Sistemática y Evolución", nombre que según Fernández Galiano (1980) le parece muy acertado si con él se quiere indicar que es necesario estudiar la evolución para que la clasificación sea natural o se aproxime a serlo. La Sociedad de Protozoólogos volvió a publicar una nueva revisión (Levine y col., 1980) basada en datos obtenidos en el microscopio electrónico. Afirman que los protozoos no son organismos primitivos y que comprende grupos muy distintos. Las principales características de esta clasificación son:

- Consideran Protozoa un subreino del reino Protista y reconocen siete filos: Sarcomastigophora, Labyrinthomorpha, Apicomplexa, Microspora, Ascetospora, Myxozoa y Ciliophora. La mayoría de los protozoos se encuentran en Sarcomastigophora (los antiguos Sarcodina más Mastigophora), Apicomplexa (esencialmente Sporozoa), Microspora y Myxozoa. Los antecedentes son Raabe (1964), el cual divide el Subreino Protozoa en tres filos: Mastigota (con los subfilos Flagellata y Telosporidia), Sarcodina (con los subfilos Rhizopoda, Actinopoda y Cnidosporidia) y Ciliata. Esta clasificación tiene, a su vez, antecedentes en otra publicación del autor (Raabe, 1948) en el que se proponen tres "tipos": Mastigina (con los subtipos Phytomastigina, Zoomastigina y Telosporidia), Sarcodina (con los subtipos Rhizopoda y Amoebosporidia = Neosporidia) y Ciliata.
- Los tres subfilos del filo Sarcomastigophora son los mismos que en 1964, aunque han cambiado el rango taxonómico (de superclase a subfilo) al alterarse el de los sarcomastigóforos, que pasaron de subfilo a filo.
 - * El subfilo Mastigophora se divide en fitomastigóforos y zoomastigóforos, grupos con categoría aquí de clase, dentro de las cuales aparecen poco más o menos los mismos órdenes que en la clasificación de 1964.
 - * En el subfilo Sarcodina desaparecen los labirintúlidos (elevados a filo Labyrinthomorpha) y piroplasmas, quedando aquí solamente dos grandes grupos: Rhizopoda y Actinopoda.
- El filo Apicomplexa queda dividido en dos clases: Perkinsea y Sporozoea (con tres subclases: Gregarina, Coccidia y Piroplasmia). Los haplosporidios se separan de este filo y se integran en el filo Ascetospora y los géneros de la antigua clase Toxoplasmea se incluyen en el orden Eucoccidiida, suborden Eimeriina.
- Desaparece el subfilo Cnidospora y las clases Myxosporidea y Microsporidea pasan a constituir el filo Microspora y Mixozoa.
- Del filo Ciliophora con 15 órdenes que se contemplaban en 1964, se ha pasado a 22. El sistema es semejante al de la clasificación francesa de 1974 e indudablemente está inspirada en ella. De esta forma el filo Ciliophora ha quedado dividido en tres clases: Kinetofragmophora, Oligohymenophora y Polyhymenophora, grupos que se encontraban ya en la clasificación de Jankowski (1967).

En 1990, Margulis y col. elaboran una taxonomía basada en las clasificaciones de: Deflandre (1953), Levine y col., (1980), Page (1988) y Margulis y Schwartz (1988). En ella se divide el reino Protoctista en 35 filos, agrupados en cuatro grupos:

- Sin pseudópodos y sin ciclo sexual: en este grupo estarían por ejemplo el filo Myxozoa y Microspora.
- Sin pseudópodos y con ciclo sexual.
- Formación de pseudópodos reversible y sin ciclo sexual: aquí se encontrarían, entre otros, el filo Zoomastigina (y algunas clases como: Amebomastigota, Diplomonadida, Kinetoplastida, Opalinata, Retortamonadida y Parabasalia con el orden Trichomonadida, entre otros).
- Formación de pseudópodos reversible y sin ciclo sexual: con el filo Ciliophora y Apicomplexa, entre otros.

En 1993, Cox intenta unir dos teorías para elaborar su clasificación, la teoría de Sleight (1989) que sugiere un patrón de clasificación que vuelva a aceptar la existencia de los cuatro grupos mayores: flagelados, ciliados, amebas y esporozoos (pero que no detalla la relación entre estos grupos) y la de Lipscomb (1993) que reconoce doce grupos filogenéticos dentro del grupo de los protozoos. Cox restaura los tradicionales cuatro grupos y divide a los protozoos en 10 filos. La clasificación acepta que los sarcomastigóforos constituyen un grupo polifilético dentro del cual hay cinco filos, se abandona la unión de los flagelados y amebas en Sarcomastigophora y también el taxón Mastigophora. Los ameboflagelados, tradicionalmente, habían sido clasificados con las amebas, pero en biología molecular se ha visto que se encuentran más cerca de los flagelados. Sin embargo, no se atrevió a crear un filo aquí y las consideró *incertae sedis*. Las amebas no constituyen un grupo natural pero las amebas parásitas comunes pertenecen a dos órdenes en un sólo filo, Rhizopoda. En la clasificación de Sleight (1989), Acanthopodida (con *Acanthamoeba*) y Euamoebida están incluidas en la misma clase, Lobosea. En esta clasificación, son separados y Acanthopodida es considerada *incertae sedis*, dentro de las amebas. Los esporozoos originalmente contenían una colección heterogénea de organismos celulares formadores de esporas, incluyendo los mixosporidios y microsporidios, que ahora son clasificados en distintos filos coherentes y bien definidos. En la clasificación de Levine y col. (1980) el grupo fue dividido en dos clases, la Sporozoa y la Perkinsea, dentro del filo Apicomplexa. Ahora existen evidencias de que el género *Perkinsus*, el único género en Perkinsea, sea probablemente un flagelado (Slein, 1989), por lo tanto el grupo se reduce a una simple categoría, aquí recogida como el filo Sporozoa, conteniendo tres clases: Gregarinae, Coccidea y Piroplasmae. Ciliophora era ya considerada como un grupo distinto y coherente y la biología molecular no lo ha alterado, además todas las evidencias sugieren que el filo es monofilético.

También, en 1993 Cavalier-Smith elabora una clasificación de los seres vivos, basada en los árboles de secuenciación de ADN. Esta clasificación está formada por seis reinos: Prokaryota, Protozoa, Chromista, Plantae, Fungi y Animalia, que se agrupan en dos imperios: Bacteria y Eukaryota (éste, a su vez, dividido en dos superreinos: Archezoa y Metakaryota). El reino Protozoa (incluido en el superreino Metakaryota, imperio Eukaryota) contiene 18 filos con la mayoría de los protozoos, unos pocos cromista, Mycetozoa y Plasmodiophorida (del reino Fungi). Trasladó al reino Archezoa a los protozoos sin mitocondrias y al reino Chromista a los protozoos cromistas fagotróficos (Chlorarachniophyta).

Hizo una precisa delimitación y diagnosis del reino Protozoa, definiendo protozoo como "eucariota fagotrófico unicelular (principalmente), plasmodial o colonial y sin pared en el estado trofozoíto". Primitivamente, poseen mitocondrias y peroxisomas (distinto de Archezoa) pero cuando ambos se han perdido secundariamente (Parabasalia, Entamoebia, Lyomonadea y ciliados anaerobios) en su lugar están presentes hidrogenosomas y/o aparato de Golgi. Los cilios nunca son rígidos ni tubulares (distinto de la mayoría de los cromistas). Haptonema ausente (excluye a los haptofitos no fotosintéticos). Los cloroplastos cuando están presentes (algunos euglenoides y dinoflagelados) no contiene ni almidón, ni ficobilisomas (distinto de Plantae) y están localizados en el citosol, nunca dentro de una membrana lisa periplástica, ni en el lumen del retículo endoplásmico rugoso, ni en una cuarta membrana (distinto de Chromista). No tienen ejectisomas en el doble rollo críptico (excluye a Goniomonas). Las pocas especies multicelulares tienen mínima diferenciación celular y les falta el tejido conectivo entre los dos distintos epitelios (distinto de Animalia).

El reino Archezoa, originariamente fue tratado por Cavalier-Smith como un subreino del reino Protozoa, pero al descubrir que poseían ribosomas 70S (como las bacterias), a diferencia de los protozoos que tienen ribosomas 80S, prefirió separarlos en un reino aparte. También difieren de la mayoría de los protozoos en que no tienen mitocondrias, peroxisomas, hidrogenosomas o un aparato de Golgi bien desarrollado. Comprende tres filos: Archamoebae, Metamonada y Microsporidia.

Existen muchas críticas a esta clasificación. La gran polémica entre los protozoólogos actuales es si la falta de mitocondrias se considera un carácter evolucionado (simplificación o pérdida por adaptación a la anaerobiosis) o un carácter primitivo y los protistas sin mitocondrias serían así descendientes de los protistas anteriores a la adquisición, por simbiosis, de las mitocondrias. Para estudiar todos estos aspectos y elaborar una nueva clasificación, la Sociedad de Protozoólogos ha vuelto a crear un nuevo Comité para la Sistemática y Evolución, bajo la dirección de Petterson, en 1994.

2.5.1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE FLAGELADOS

En un principio, en los primeros trabajos de Leuckart (1862-1876), los flagelados (Monadina) y ciliados (Holotricha) se encontraban juntos en el grupo de los infusorios. Más tarde, Leuckart dio el taxón de clase a Infusoria y la dividió en dos órdenes: Flagellata y Ciliata. Kent (1880-1882) elevó Flagellata a clase y la incluyó en el grupo Eustomata por tener especies con boca simple.

Bütschli (1883-1887) colocó a los flagelados en la clase Mastigophora y en 1901 Doflein la incluyó en el subfilo Plasmodroma. En 1909 sólo tenía una subclase, Flagellata que posteriormente incrementó a tres: Flagellata, Dinoflagellata y Cystoflagellata, pero en 1916 modificó la clasificación y dividió a la clase Mastigophora en 2 subclases, según su nutrición: Phytomastigina (holofítica) y Zoomastigina (holozoica). Ésto fue adoptado con pocos cambios por Wenyon (1926), Pearse y col. (1936) y Kudo (1966).

Sin embargo, Grassé (1952) propuso la unión de flagelados y sarcodinas en un sólo grupo, el subfilo Rhizoflagellata, dividido en dos superclases: Flagellata y Rhizopoda. Esta unión fue también adoptada por Corliss (1962) con el nombre de Mastigamoebaea, que más tarde sustituyó por Sarcomastigophora (Corliss, 1968). Esta relación entre amebas y flagelados ya se indicaba en el dendrograma filogenético de Bütschli (1880).

Honigberg y col. (1964) recogen la teoría de Grassé de unir las amebas y los flagelados en un subfilo, aunque sustituyendo el nombre Rhizoflagellata por el de Sarcomastigophora, propuesto el año anterior por dos miembros del comité (Honigberg y Balamuth, 1964) y además transfieren las opalinas, del subfilo Ciliophora, al subfilo Sarcomastigophora. Dividen el subfilo en tres superclases: Mastigophora, Sarcodina y Opalinata. A su vez, la superclase Mastigophora se divide en dos clases: Phytomastigophorea y Zoomastigophorea. En ésta última se incluyen nueve órdenes, entre ellos: Kinetoplastida (suborden Trypanosomatina, en el que se encontraría la familia Trypanosomatidae), Retortamonadida (con la familia Retortamonadidae), Diplomonadida (familia Hexamitidae) y Trichomonadida (familias Monocercomonadidae y Trichomonadidae).

Levine (1973) y Baker (1977) siguen las propuestas de Honigberg y col. sobre el subfilo Sarcomastigophora.

En la nueva clasificación de la Sociedad de Protozoólogos (Levine y col., 1980) elevan Sarcomastigophora a filo pero los tres subfilos son los mismos que en 1964, aunque han cambiado el rango taxonómico (de superclase a subfilo) al alterarse el de los sarcomastigóforos, que pasaron de subfilo a filo. El subfilo Mastigophora se divide en Phytomastigophorea y Zoomastigophorea, grupos con categoría aquí de clase, dentro de las cuales aparecen poco más o menos los mismos órdenes que en la clasificación de Honigberg y col. (1964), aunque desaparecen los órdenes Ebriida (cuyos representantes se consideran como dinoflagelados) y Coccolithophorida (cuyos miembros se incluyen en el orden Prymnessida) y aparece uno nuevo Prasinomonadida, cuyos representantes antes dispersos por otros órdenes, se pueden reconocer al microscopio electrónico por sus escamas. Los órdenes Trichomonadida y Hypermastigida forman el superorden Parabasalidea que fue creado por Honigberg en 1973, para indicar grados de interrelación entre dichos taxones.

En 1990, Margulis crea, para los flagelados el filo Zoomastigina, el cual se divide en 11 clases, entre ellas: Diplomonadida, Kinetoplastida, Opalinata, Parabasalia y Retortamonadida.

Según Cox (1993) los flagelados no forman un grupo coherente sino que constituyen un grupo polifilético dentro del cual hay cuatro filos: Metamonada, Parabasalia, Kinetoplasta y Opalinata. Se abandona la unión de los flagelados y amebas en Sarcomastigophora y también el taxón Mastigophora. Los ameboflagelados habían sido clasificados tradicionalmente con las amebas, pero se ha visto por biología molecular que se encuentran más cerca de los flagelados euglénidos, a su vez cercanos a los flagelados kinetoplásticos, pero no se atrevió a crear un filo aquí y las consideró *incertae sedis*. En esta clasificación nuestras familias quedarían incluidas en el reino Protista, Grupo 1. Protozoos flagelados:

- Filo Metamonada:
 - Orden Retortamonadida: familia Retortamonadidae.
 - Orden Diplomonadida: familia Hexamitidae (subfamilias: Hexamitinae y Gardiinae).
- Filo Parabasalia, orden Trichomonadida:
 - Familia Monocercomonadidae (subfamilia Monocercomonadinae).
 - Familia Trichomonadidae (subfamilia Trichomonadinae).
- Filo Kinetoplasta, orden Trypanosomatida: familia Trypanosomatidae.

En la clasificación de Cavalier-Smith (1993) nuestros flagelados se distribuyen en dos grupos:

- Reino Archezoa, con flagelados que poseen ribosomas 70S (como las bacterias) y no tienen mitocondrias, peroxisomas, hidrogenosomas o un aparato de Golgi bien desarrollado.
- Reino Protozoa, compuesto por flagelados con:
 - Ribosomas 80S, mitocondrias y peroxisomas.
 - Ribosomas 80S que primitivamente poseían mitocondrias y peroxisomas pero secundariamente, se han perdido y han sido sustituidos por hidrogenosomas y/o aparato de Golgi (clase Parabasalia).

Por tanto, nuestros flagelados se encuentran en dos superreinos distintos (dentro del imperio Eukaryota)

- Superreino Archezoa, reino Archezoa, filo Metamonada, subfilo Eopharyngia:
 - Clase Trepomonadea y orden Diplomonadida: familia Hexamitidae.
 - Clase Retortamonadea y orden Retortamonadida: familia Retortamonadida.
- Superreino Metakariota, reino Protozoa, subreino Dictyozoa:
 - Rama Parabasalia, filo Parabasalia, clase Trichomonadea y orden Trichomonadida:
 - * Familia Monocercomonadidae.
 - * Familia Trichomonadidae.
 - Rama Bikonta, infrareino Euglenozoa, filo Euglenozoa, subfilo Kinetoplasta, clase Kinetoplastea y orden Trypanosomatida: familia Trypanosomatidae.

Características generales.

Los flagelados poseen de uno a varios flagelos típicamente presente en los trofozoítos. La gran mayoría posee un núcleo y solamente unos pocos son multinucleados. La reproducción asexual se realiza normalmente por fisión longitudinal, sin embargo en algunos organismos también se realiza la fisión múltiple y la gemación bajo ciertas condiciones. También se puede dar en este grupo la formación de colonias, debida a una separación incompleta de los individuos hijos y la reproducción sexual en algunas especies. Los flagelados son libres o parásitos. Las formas libres se encuentran en aguas dulces y saladas de cualquier descripción. Las formas parásitas son ecto o endoparásitas, y estas últimas habitan en el tubo digestivo, en diversas cavidades o en el sistema circulatorio del animal hospedador.

2.5.1.1. FAMILIA RETORTAMONADIDAE WENRICH, 1932

Sinónimo: Embadomonadidae Alexeieff, 1917.

Género tipo: *Retortamonas* Grassi, 1879.

Es la única familia del orden Retortamonadida, incluye sólo dos géneros: *Retortamonas* Grassi, 1879 y *Chilomastix* Alexeieff, 1912.

Grassé en 1952, incluye dentro de este orden a la familia Cochlosomidae Tyzzer, 1930. Sin embargo, Kulda y Nohynkova en 1978 sugieren su inclusión en el orden Trichomonadida por su similitud en diversas estructuras.

Las relaciones entre *Retortamonas* y *Chilomastix* fueron reconocidas por Alexeieff (1912), Mackinnon (1915), Wenrich (1932), Kirby y Honigberg (1950), y confirmados por estudios de ultraestructura (Brugerolle 1973, 1977).

Alexeieff (1917) fue el primero que unificó el género *Retortamonas* en una única familia, Embadomonadidae. Mas tarde Wenrich (1932) estableció la familia Retortamonadidae basada en el nombre genérico correcto. A pesar de esto, las ideas de Wenrich no fueron aceptadas, siendo el obstáculo principal de sus ideas, la clasificación rígida y artificial del taxón superior. El esquema introducido por Blochman en 1895, agrupando flagelados de acuerdo con el número de flagelos, fue conservado bastante tiempo. De acuerdo con el concepto derivado de Blochman (Ej.: Kudo, 1966) cada género estaría situado en una familia distinta de un orden diferente: *Retortamonas* (con dos flagelos) en Retortamonadidae Wenrich, 1932, Protomonadida Blochman, 1895; *Chilomastix* (con cuatro flagelos) en Chilomastigidae Wenyon, 1926, Polymastigida Blochman, 1895.

En 1952, Grassé rompió esta tradición y propuso algunos nuevos órdenes, entre ellos Retortamonadida, en el cual puso juntos a *Retortamonas* y *Chilomastix*. Su propuesta fue aceptada por el Comité Taxonómico de Protozoólogos y adoptada en las recientes clasificaciones de protozoos.

Ciertas similitudes entre Retortamonadida, Diplomonadida y Oxymonadida sugieren un ancestro común de los tres órdenes (Brugerolle, 1973). Los miembros de todos ellos tienen dos pares de kinetosomas diferentes y no poseen mitocondrias, aparato

de Golgi, ni orgánulos microcorporales. Diplomonadida y Retortamonadida poseen un citostoma asociado con componentes fibrilares. La división nuclear en los diferentes retortamonádidos muestra algunas características similares entre ambos: el uso intranuclear de Oxymonadida y mitosis semiabierta de Diplomonadida. A pesar de esto, son necesarios más datos comparativos para una consideración de la relación filogenética de Retortamonadida.

Kulda y Nohynková (1978) sugieren la inclusión de la familia Retortamonadidae en el orden Trichomonadidae por su similitud en el aparato parabasal con cuerpo argentófilo, fibra parabasal unida al complejo kinetosomas, axostilo tubular y pelta en forma de media luna.

Levine y col. (1980) siguiendo los criterios taxonómicos utilizados por Grassé (1952), confirman la validez del orden Retortamonadida y de la familia Retortamonadidae con los dos géneros citados.

Los miembros de esta familia son flagelados uninucleados con un área citostómica visible, situada ventralmente, en la parte anterior del cuerpo. Poseen dos o cuatro flagelos, uno de ellos recurrente y asociado con el citostoma. Las mitocondrias y el aparato de Golgi están ausentes. Todas las especies son parásitas.

La mayor parte de los retortamonádidos son comensales inofensivos en el tracto digestivo del hombre, otros vertebrados y varios invertebrados.

2.5.1.1.1. Género *Retortamonas* Grassi, 1879

Sinónimos: *Plagiomonas* Grassi, 1881; *Embadomonas* Mackinnon, 1911; *Waskia* Wenyon y O'Connor, 1917.

En 1879, Grassi crea el género *Monocercomonas* para acomodar a varios flagelados heterogéneos y lo dividió en varios subgéneros: *Monocercomonas*, *Retortamonas*, *Schedocercomonas* y *Trichomonas*. El subgénero *Retortamonas* estaba basado en un flagelado obtenido de *Gryllotalpa gryllotalpa*. A este flagelado se le dio el nombre de *Retortamonas gryllotalpae*, aunque fue descrito muy brevemente y sin ninguna ilustración. En 1881, describió este flagelado con detalle dándole dos ilustraciones pero sin ninguna razón aparente le cambió el nombre por el de *Plagiomonas gryllotalpae*. Doflein (1901) asignó *Plagiomonas gryllotalpae* al género *Bodo* pero varios trabajos han demostrado que esta conclusión fue errónea. Stiles (1902) revisó los géneros de Grassi de 1879 y 1881 y mostró por primera vez que *Plagiomonas* era un sinónimo de *Retortamonas* y que *Retortamonas* tenía prioridad.

En 1911 Mackinnon crea el género *Embadomonas* para situar a unos organismos con dos flagelos que encontró en larvas de tricópteros, y los llamó *E. agilis*. A este género se añadieron otras doce especies.

Wenyon y O'Connor en 1917, encuentran en el hombre un flagelado al que denominan *Waskia intestinalis*, aunque según Grassé (1926) era evidente que pertenecía al género de Mackinnon y también sugiere la creación de otro nuevo género para adecuar las monocercomonas de insectos. Existen grandes discrepancias en cuanto a la

integración de los géneros creados por Grassi. Por una parte Wenyon (1926) piensa que el género *Monocercomonas* debería sustituir al género *Retortamonas*, mientras que Wenrich (1932) acepta el género *Monocercomonas* pero libre de formas dudosas, como sugiere Grassé (1926). Finalmente se adopta el nombre genérico de *Retortamonas* para los individuos con dos flagelos de tal forma que *Embadomonas* y *Waskia* pasan a ser sinónimos.

La morfología al microscopio óptico ha sido estudiada por Nie (1950), Kirby y Honigberg (1950) y Moskowitz (1951) y la ultraestructura por Brugerolle (1977).

2.5.1.1.1. Especie *Retortamonas dobelli* Bishop, 1931

Sinónimos: *Embadomona saurarum* Grassé, 1926; *Embadomona dobelli* Bishop, 1931; *Retortamonas saurarum* Moskowitz, 1951.

Hospedadores: *Acris gryllus*, *Anguis fragilis*, *Bufo bufo*, *B. calamitas*, *B. marinus*, *B. valliceps*, *B. vulgaris*, *Hyla meridionalis*, *Lacerta agilis*, *Litoria caerulea*, *Rana catesbeiana*, *R. clamitans*, *R. esculenta*, *R. pipiens*, *R. perezi*, *R. temporaria* y *Salamandra maculosa*.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: Australia y Europa. En España sólo ha sido citada anteriormente por Carrera-Moro y col. (1987) en *H. meridionalis* y *R. perezi* de las Islas Canarias.

En 1926 Grassé señala la presencia de retortamonas en *Anguis fragilis* denominándola *Embadomona saurarum*, sin embargo no da ninguna descripción. Moskowitz en 1952 encontró retortamonádidos en culebras, utilizando el nombre creado previamente por Grassé, *Retortamonas saurarum*. Grassé (1952) en su libro ni siquiera cita el nombre creado por él cuando señala que encontró *Retortamonas* en el recto de saurios. Kulda (1959) admite que los organismos considerados como *R. saurarum*, son idénticos a la especie de *R. dobelli*, teniendo prioridad, por lo tanto, el nombre creado por Bishop. De esta forma, *R. saurarum* se considera un sinónimo de *R. dobelli*.

Ciclo biológico.

Comprende dos estados: el trofozoíto móvil y el quiste. El trofozoíto se multiplica en el intestino del hospedador por escisión binaria. El quiste está cubierto por una pared gruesa y son expulsados con las heces al exterior, proporcionando así la diseminación de la especie. Estos son uninucleados, ovales o ligeramente terminados en una punta en un extremo y el promedio de tamaño es de 6 por 4-5 µm.

2.5.1.1.2. Género *Chilomastix* Alexeieff, 1912

Sinónimos: *Macrostoma* Alexeieff, 1909; *Fanapepea* Prowazek, 1911; *Cyathomastix* Prowazek y Werner, 1914; *Difamus* Gäbel, 1914; *Tetrachilomastix* Da Fonseca, 1920.

Los flagelados del género *Chilomastix* fueron citados por primera vez en anfibios, por Alexeieff en 1909, bajo el nombre de *Macrostoma*. Posteriormente lo transfiere al género *Tetramitus* Perty, 1852 y en 1912 diferencia esos organismos y erige el género *Chilomastix* para acomodarlos.

Muchas especies de este género han sido descritas desde entonces, en una gran variedad de vertebrados y en algunos invertebrados (termitas y libélulas).

La morfología fue estudiada al microscopio óptico por Boeck y Tanabe (1926), Bishop (1935), Geiman (1935), Nie (1948) y McDowell (1953) y al microscopio electrónico por Brugerolle (1973).

2.5.1.1.2.1. Especie *Chilomastix caulleryi* Alexeieff, 1909

Sinónimo: *Macrostoma caulleryi* Alexeieff, 1909; *Tetramitus* Alexeieff, 1910.

Hospedador: *Bufo marinus*, *B. vulgaris*, *Hyla meridionalis*, *Limnodynastes convexiusculus*, *L. dorsalis*, *Litoria fallax*, *L. latopalmata*, *L. nasuta*, *L. rothii*, *L. rubella*, *Molge marmorata*, *Pelodytes punctatus*, *Pleurodeles waldtlii*, *R. perezii*, *R. temporaria* y *Taudactylus rheophilus*.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: Australia y Europa. Su presencia en España había sido señalada las Islas Canarias por Carrera-Moro y col. (1987) en *H. meridionalis* y *R. perezii*.

Ciclo biológico.

El trofozoito se multiplica en el intestino del hospedador por escisión binaria, se enquistan cubriéndose por una pared gruesa (quistes con forma de grano de uva) y son expulsados con las heces al exterior, proporcionando así la diseminación de las especies.

2.5.1.2. FAMILIA HEXAMITIDAE KENT, 1880

Sinónimos: Octomitidae Minchin, 1912.

Incluye 6 géneros: dos son de vida libre (*Trepomonas* y *Trigomonas*), otro contiene especies parásitas y de vida libre (*Hexamita*) y el resto son parásitos exclusivamente (*Spiromucleus*, *Octomitus* y *Giardia*).

Lavier en 1936 fue el primero en distinguir los géneros *Hexamita*, *Spiromucleus* y *Octomitus* y aunque sus descripciones fueron vagas y algunas de ellas incorrectas, su esquema ha sido plenamente confirmado por investigaciones recientes. Presenta las características morfológicas de estos flagelados (al microscopio óptico), permitiendo

diferenciar los géneros y posteriormente su separación en dos subfamilias: Hexamitinae y Giardiinae, como hace Brugerolle (1975) más tarde, con relación a su ultraestructura y forma de alimentación.

Existe mucha confusión en la taxonomía y nomenclatura de esta familia, algunos géneros están inadecuadamente definidos. Por ello, algunos autores han considerado que es preferible el uso de un único nombre genérico para todos los flagelados del grupo, exceptuando *Giardia*. Sin embargo, han sido utilizados diferentes nombres por distintos autores.

Los miembros de esta familia son diplomonádidos de simetría axial, con 8 flagelos, 2 núcleos y un juego doble de orgánulos.

2.5.1.2.1. SUBFAMILIA HEXAMITINAE KENT, 1880

Género tipo: *Hexamita* Dujardin, 1838.

Incluye los géneros: *Hexamita* Dujardin, 1838, *Spiromucleus* Lavier, 1936 y *Trepomonas* Dujardin, 1841 (Margulis y col., 1990).

Los trofozoítos poseen dos citostomas, cada uno acompañado de una banda microtubular de funículos y una varilla fibrilar laminar estriada. Posee un flagelo recurrente limitado por la membrana celular, que atraviesa cada citostoma y sale posteriormente. La fagocitosis se produce en la porción apical del citostoma. Comprende géneros de vida libre saprozoicos y parásitos.

2.5.1.2.1.1. Género *Hexamita* Dujardin, 1838

Sinónimos: *Dicercomonas* Grassi, 1879; *Hexamitus* Butschli, 1878; *Urophagus* Klebs, 1892; *Octomitus* Prowazek, 1914; *Octomastix* Alexeieff, 1917.

Son parásitos de peces, ostras y anfibios.

La microscopía óptica de *Hexamita* fue estudiada por Wenrich (1935), Kirby y Honigberg (1948) y Kulda y Lom (1964). La ultraestructura fue estudiada por Brugerolle (1974).

2.5.1.2.1.1. Especie *Hexamita intestinalis* Dujardin, 1841

Sinónimos: *Hexamitus intestinalis* Dujardin, 1841.

Hospedador: *Hyla meridionalis*, *Pseudacris clarkii*, *Rana dalmantina*, *R. esculenta*, *R. perezii*, *R. pipiens*, *R. ridibunda* y *R. temporaria*.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: Cosmopolita.

Citada en la Península Ibérica anteriormente por:

- Cordero del Campillo, M. y col (1973) en peces de España.
- Carrera-Moro y col. (1987) en *H. meridionalis* de las Islas Canarias.
- Carvalho-Valera, M. y col (1981) en peces de Portugal.

2.5.1.2.1.2. Genero *Spiromucleus* Lavie, 1936

Los miembros de este género han sido frecuentemente descritos bajo el nombre genérico de *Hexamita*, *Octomitus* y una gran variedad de sus sinónimos.

La microscopía óptica de *Spiromucleus* fue estudiada principalmente por Kulda y Lom (1964) y su ultraestructura por Brugerolle (1973).

2.5.1.2.1.2.1. Especie *Spiromucleus elegans* Lavie, 1936

Sinónimos: *Octomitus dujardini* Dobell, 1906; *Hexamita intestinalis* (Dujardin) Swezy, 1915; *Hexamita salpae* Lavie, 1936; *Octomitus truttae* (Smitdt) Scháperdam, 1954.

Hospedador: *Barbus barbus*, *Bufo marinus*, *Cacosternum boettgeri*, *Cyclorana novaehollandiae*, *Hyla meridionalis*, *Hyperolius marmoratus*, *H. pickersgilli*, *H. pusillus*, *H. semidiscus*, *H. tuberilinguis*, *Kassina maculata*, *K. senegalensis*, *Leptopelis natalensis*, *L. mossambicus*, *Litoria caerulea*, *L. chloris*, *L. cyclorhyncha*, *L. dahliei*, *L. dentata*, *L. ewingii*, *L. fallax*, *L. gracilentia*, *L. inermis*, *L. infrafronata*, *L. latopalmata*, *L. lesueuri*, *L. nasuta*, *L. nyakalensis*, *L. pallida*, *L. peronii*, *L. raniformis*, *L. revelata*, *L. rheocola*, *L. rothii*, *L. rubella*, *L. serrata*, *L. tornieri*, *L. verreauxii*, *Limnodynastes convexiusculus*, *L. dorsalis*, *L. dumerilii*, *L. ornatus*, *L. peronii*, *L. tasmaniensis*, *L. terraereginae*, *Neobatrachus centralis*, *N. pelobatoides*, *N. pictus*, *Nyctimystes dayi*, *Phrynomerus bifasciatus*, *Phrynobatrachus mababiensis*, *P. natalensis*, *Pseudophryne coriacea*, *Pterophylum scalare*, *Ptychadena anchitae*, *P. mascareniensis*, *P. oxyrhynchus*, *Rana angolensis*, *R. dalmantina*, *R. esculenta*, *R. fuscigula*, *R. perezii*, *Ranidella bilingua*, *R. insignifera*, *R. parinsignifera*, *Semnodactylus wealii*, *Strongylopus grayii*, *Tomopterna cryptotis*, *T. krugerensis*, *T. natalensis*, *Uperoleia laevigata*, *Xenopus laevis* y *X. muelleri*.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: Cosmopolita. Su presencia en España sólo había sido señalada por Carrera-Moro y col. (1987) en *H. meridionalis* y *R. perezii* de las Islas Canarias.

Es un comensal común de anfibios y un parásito de peces, pavos, palomas y ratones de laboratorio.

2.5.1.2.1.3. Género *Brugerolleia* Desser, Hong, Siddall and Barta, 1993

Sinónimo: *Hexamita* Desser y col. 1985.

Especie tipo y única: *B. algonquinensis* Desser, Hong, Siddall and Barta, 1993.

Según un comunicado personal de Barta este género todavía no ha sido incluido en ninguna subfamilia, aunque lo más probable es que la incluyan en Hexamitinae.

Desser y Jones (1985) observaron en la sangre de *R. clamitans* y *R. catesbeiana* de Canadá un flagelado diplomonádido que fue identificado como *Hexamita intestinalis*, pensaron que era una infección aberrante en la sangre puesto que anteriormente sólo se habían visto hexamitas en el intestino grueso, pero al encontrarlas en más ranas, sugirieron que era una adaptación del parásito a otro hábitat. Posteriormente, en 1993, Desser y col. aplicando la microscopía electrónica, vieron que no era *Hexamita intestinalis* y establecieron un nuevo género, *Brugerolleia*, para acomodar a la nueva especie, *Brugerolleia algonquinensis*.

2.5.1.2.1.3.1. Especie *Brugerolleia algonquinensis* Desser, Hong, Siddall and Barta, 1993

Sinónimo: *Hexamita intestinalis* Desser y col., 1985.

Hospedador: *Bufo calamita*, *Rana catesbeiana*, *R. clamitans* y *R. esculenta*.

Localización: Tejido sanguíneo.

Distribución: Canadá. No ha sido citada anteriormente en la Península Ibérica.

Según Desser y col. (1993), la baja prevalencia de *B. algonquinensis* observada en ranas de Canadá puede ser el resultado de una parasitemia que surge después de una patología, cuando los flagelados entéricos invaden la mucosa intestinal y acceden a la sangre, como ocurre con diplomonádidos relacionados como *Giardia muris* y *Spiromucleus muris* en el ratón.

2.5.1.2.2. SUBFAMILIA GIARDIINAE KULDA NOHYNKOVA, 1978

Género tipo: *Giardia* Kunstler, 1882.

Incluye los géneros: *Giardia* Kunstler, 1882 y *Octomitus* Powazek, 1904.

Los trofozoítos de esta subfamilia no tienen citostomas. Los flagelos poseen porciones intracitoplasmáticas de axonemas desnudos que atraviesan la vaina de la membrana celular. La fagocitosis se produce en cualquier parte de la superficie del cuerpo libre de componentes fibrilares. Todos sus miembros son parásitos.

2.5.1.2.2.1. Género *Octomitus* Powazek, 1904

Sinónimos: *Syndyomita* Lavier, 1936. Algunas especies han sido descritas bajo el nombre de *Hexamita* y sus sinónimos.

La morfología fue estudiada con el microscopio óptico por Kirby y Honigberg (1949), y R. Gabel (1954), así como Brugerolle y col. (1974) describieron la ultraestructura del género.

2.5.1.2.2.1.1. Especie *Octomitus neglectus* (Lavier, 1936) Grassé, 1952

Sinónimos: *Octomitus dujardini* Dobell, 1909; *Syndyomita neglecta* Lavier, 1936.

Hospedador: *Hyla meridionalis*, *Rana dalmantina*, *R. esculenta* y *R. perezii*.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: Europa. Únicamente citada en España por Carrera-Moro y col. (1987) en *H. meridionalis* y *R. perezii* de las Islas Canarias.

2.5.1.2.2.2. Género *Giardia* Kunstler, 1882

Los flagelados de este género representan el grupo más desarrollado de parásitos diplomonádidos de la familia Hexamitidae. Se diferencian del resto de los diplomonádidos en la presencia de un disco adhesivo (órgano de fijación) situado en la superficie ventral aplanada del cuerpo.

Giardia pudo haber sido observada por Leeuwenhoeck en 1691, pero fue Lambl en 1859 quien dio la primera descripción de la especie. Describió giardia humana como *Cercomonas intestinalis*. Más tarde, esta especie fue objeto de discusión sobre su primera nomenclatura por la diferencia de los nombres usados en cada hemisferio.

Se han descrito 40 especies, pero la validez de muchas de ellas es dudosa, porque la taxonomía del género es oscura y se carecía de un criterio claro para una diferenciación de las especies. Recientemente se han realizado progresos considerables sobre la ultraestructura y patogeneidad de este parásito.

Giardia agilis difiere notablemente de otras especies de giardias conocidas por la longitud de su cuerpo. Hegner (1922) admite que estructuralmente no se diferencia de las otras especies, aunque Reuling y Rodenwaldt (1921) describieron ciertas diferencias, motivo por el cual sugirieron la retención del nombre *Giardia* para ésta forma y el nombre de *Lamblia* para otras. De acuerdo con el concepto tradicional de hospedador específico (Hegner, 1926) poblaciones de giardia de cada especie de hospedador son consideradas especies independientes (Ansari, 1951-1952). Por el contrario sólo tres especies: *G. agilis*, *G. muris* y *G. duodenalis* claramente diferenciadas en su morfología han sido reconocidas por Filice (1952). Ninguno de estos conceptos extremos parece ser correcto.

Las especies de *Giardia* se dividen en tres grupos morfológicos, diferenciándose por la forma y posición de los cuerpos medios, la forma del cuerpo, y la longitud relativa del disco adhesivo:

- Grupo *Giardia agilis*. Contiene las especies de anfibios: *G. agilis* Kunstler, 1882, *G. alata* Kunstler y Gineste, 1907, *G. gracilis* Kunstler y Gineste, 1907 y *G. xenopodes* Fantham, 1923.
- Grupo *Giardia duodenalis*. Sus especies son parásitas del hombre (*G. duodenalis* Filice, 1952), de animales domésticos (*G. canis* Hegner, 1922, *G. cati* Deschiens, 1925, *G. bovis* Fantham, 1921 y *G. caprae* Nieschulz, 1923) y de algunos otros mamíferos, probablemente también de varias aves y reptiles. Algunas especies son patógenas.
- Grupo *Giardia muris*. Está formado por especies de roedores (*Giardia muris* (Grassi, 1879) Kofoed y Christiansen, 1915) y de aves (*G. sanguinis* Gonder, 1911 y otros). Posteriores estudios pueden revelar que algunas especies de *Giardia* de aves (*G. floridae* Travis, 1939) constituyen un grupo morfológico separado.

Las especies de este género se encuentran en el intestino de toda clase de vertebrados (como perros, gatos y ovejas) y una de ellas, *Giardia duodenalis*, es parásita del hombre. Además, algunas especies son capaces de vivir en el tracto digestivo de ciertos nematodos, cuando parasitan hospedadores vertebrados. Las especies humanas y probablemente algunas especies de animales son patógenas, causando una enfermedad llamada Giardiosis (Lambliosis) caracterizada por diarreas y otros trastornos digestivos.

2.5.1.2.2.1. Especie *Giardia agilis* Kunstler, 1882

Hospedador: *Bufo marinus*, *Hyla meridionalis*, *Hyperolius marmoratus*, *Litoria caerulea*, *L. peronii*, *Rana angolensis*, *R. catesbeiana* y *R. perezi*.

Localización: Intestino delgado.

Distribución: Europa, América de Norte, Australia y África del Sur. Citada en España solamente por Carrera-Moro y col. (1987) en *H. meridionalis* y *R. perezi* de las Islas Canarias.

Este parásito, según numerosos autores, se encuentra en renacuajos, pero la infección desaparece cuando tiene lugar la metamorfosis.

El enquistamiento de *Giardia agilis* fue observado por Lavier (1942) y es semejante al de *Giardia duodenalis*.

Ciclo biológico.

El cuerpo del flagelado se repliega sobre sí mismo hasta llegar a hacerse esférico, desaparece el surco ventral, las porciones internas de los flagelos posteriores se separan, los flagelos libres se adhieren a la superficie del cuerpo y después quedan intracitoplásmicos. La pared quística proviene de una transformación de la membrana del propio organismo. En el interior del quiste, los núcleos se dividen una o varias veces, por un proceso semejante a la cariocinesis de las formas activas. Los quistes con 4 núcleos son los más frecuentes. Son expulsados con las heces al exterior, quedan en el agua y son ingeridos por renacuajos.

2.5.1.2. FAMILIA MONOCERCOMONADIDAE (KIRBY, 1944) HONIGBERG, 1963

Se divide en cinco subfamilias: Chilomitinae Honigberg, 1963, Dientamoebinae (Grassé, 1953) Honigberg, 1974, Hypotrichomonadinae Honigberg, 1963, Monocercomonadinae (Kirby, 1944) Honigberg, 1963 y Protrichomonadinae Honigberg y Kuldova, 1969.

Comprende géneros cuyas estructuras son las más simples. El número de flagelos o de kinetosomas representa un carácter evolutivo, así el género más primitivo de los tricomonádidos es *Monocercomonas* que posee 4 kinetosomas flagelados. Por el contrario los géneros *Histomonas* y *Dientamoeba* donde se observa una reducción en el número de flagelos o de kinetosomas son considerados como regresivos con relación al género *Monocercomonas*. Señalaremos que, cuando el número de flagelos aumenta, como en *Hexamastix* y *Pentatrichomonas*, no tienen porqué existir obligatoriamente una evolución paralela de otras estructuras. Sin embargo el aumento del número de flagelos cuando está acompañado de la evolución de otras estructuras del citoesqueleto conduce a la diferenciación de organismos muy evolucionados como *Lophomonadidae*, *Joeniidae* e *Hipermastigida*.

2.5.1.2.1. SUBFAMILIA MONOCERCOMONADINAE (KIRBY, 1944) HONIGBERG, 1963

Género tipo: *Monocercomonas* Grassi, 1879.

Incluye los géneros: *Hexamastix* Alexeieff, 1912, *Monocercomonas* Grassi, 1879, *Tetratrichomastix* Mackinnon, 1913 y *Tricercomitus* Kirby, 1930.

Las principales diferencias entre los géneros *Tetratrichomastix*, *Hexamastix* y *Monocercomonas* estriban fundamentalmente en el número de flagelos. Honigberg (1963) se pregunta si algunos o incluso todos los organismos con 5 flagelos descritos exclusivamente en insectos, representan estados intermedios de *Hexamastix*, género que por otra parte, es bastante común en estos hospedadores. Tampoco cree que *Tetratrichomastix* esté todavía claramente caracterizado.

Los organismos de esta subfamilia son ovoides y poseen de 3 a 5 flagelos anteriores. El flagelo recurrente está libre salvo en su parte proximal donde se adhiere a la superficie celular bajo la cual se desarrolla una lámina marginal. El capítulo axostilar está coronado por una pelta. No tienen membrana ondulante. El axostilo es fino y se proyecta más allá de la superficie posterior del cuerpo.

2.5.1.3.1.1. Género *Monocercomonas* Grassi, 1879

Sinónimo: *Trichomastix* Blochmann, 1884; *Eutrichomastix* Kofoid y Swezy, 1915.

Especie tipo: *Monocercomonas colubrorum* Hammerschmidt, 1844.

El género *Monocercomonas* es el género más primitivo dentro del orden Trichomonadina.

Grassi, en 1879, establece el género *Monocercomonas* con cuatro subgéneros: *Monocercomonas*, *Retortamonas*, *Schedoacercomonas* y *Trichomonas*. Incluye siete especies en el subgénero *Monocercomonas*. En 1881, lo elevó al rango de género, removiéndole todas las especies excepto *M. hominis* y *M. coronellae* y añadió *M. insectorum*. Al mismo tiempo afirmó que *M. columbrorum* era un sinónimo de *M. coronellae*. Grassi (1888) colocó *Trichomastix* Blochmann, 1884 como sinónimo de *Monocercomonas*. Sin embargo, Stiles (1902) reconoce los géneros *Monocercomonas* y *Trichomastix* como independientes y designa *M. coronellae* como especie tipo de *Monocercomonas* y *T. lacertae* como especie tipo de *Trichomastix*.

En 1909 Dobell describe la primera especie de monocercomonas en anfibios, *M. batrachorum* en *Rana temporaria*.

Kofoid y Swezy (1915) sustituyen *Trichomastix* por *Eutrichomastix*, puesto que Vollehoevan (1878) previamente había propuesto *Trichomastix* para un insecto.

Grassé en 1926 reconoce *E. colubrorum* como especie tipo de *Eutrichomastix*. Poco después, Travis (1932) restablece el nombre *Monocercomonas* y por tanto, designa *M. colubrorum* como especie tipo. Sin embargo, Vidigal (1942) sostiene que *Monocercomonas* y *Eutrichomastix* son géneros distintos, y que a pesar de las similitudes existen diferencias entre los dos géneros.

En 1953, Grassé sitúa al género *Monocercomonas* en la subfamilia Monocercomonadinae, familia Trichomonadidae, orden Trichomonadida y Reichenow (1952) reconoce el mismo género, familia y subfamilia, pero no el orden, ya que lo sitúa en Polymastigida. Sin embargo Kudo (1954) le denomina *Eutrichomastix* en lugar de *Monocercomonas* y le incluye en la familia Polymastigidae, orden Polymastigida. Hall (1953) reconoce los dos órdenes, pero no está de acuerdo con Kudo en el empleo del nombre genérico que usa.

Krisnhamurthy (1968) divide el género en tres subgéneros: *Alimonas*, *Monocercomonas* y *Qadrimonas* (según la presencia o ausencia del filamento accesorio y su longitud).

Monocercomonas ha sido considerado como organismo saprofita para anfibios y potencialmente patógeno para reptiles.

2.5.1.3.1.1.1. Especie *Monocercomonas maculatus* Carrera-Moro, 1987

Hospedador: *H. meridionalis* y *R. perezii*.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: Europa.

Esta especie ha sido descrita e ilustrada por Carrera-Moro y col. (1987) en *H. meridionalis* y *R. perezii* de las Islas Canarias. Esta es la única cita en España y en el mundo.

2.5.1.4. FAMILIA TRICHOMONADIDAE (CHALMERS Y PEKKOLA, 1918) HONIGBERG, 1963

En 1926, Wenyon crea la familia Trichomonadidae y Kirby (1931) acepta la familia creada por Wenyon con la mayor parte de los no tricomonádidos o géneros no válidos y no corrige este grupo hasta mucho tiempo después (1946). Chalmers y Pekkola, crean la subfamilia Trichomonadinae en 1918, para incluir a organismos que definen como "Tetramitidae con un axostilo". Kirby, en 1947, observa que siguiendo esta definición, la subfamilia abarcaría no sólo todos los tricomonádidos, sino también a otros. Por esta razón no está de acuerdo con el nombre propuesto por Chalmers y Pekkola, pero está a favor de la familia Trichomonadidae de Wenyon.

Grassé y Hollande (1950) y Grassé (1952) están de acuerdo en el agrupamiento de la subfamilia de Chalmers y Pekkola (equivalente a la familia Trichomonadidae sensu Kirby, 1931). En 1947 Kirby traslada a la familia del orden Polymastigida y lo eleva a orden Trichomonadida, dividiéndolo en cuatro familias: Calonymphidae, Devescovichidae, Monocercomonadidae y Trichomonadidae. Sin embargo, Grassé y Hollande (1950) rechazaron el orden de Kirby y sugirieron que la familia Trichomonadidae fuera dividida en cuatro subfamilias: Monocercomonadinae, Descovichinae, Trichomonadinae y Macrotrichomonadinae. Pero más tarde Grassé (1952) acepta el orden Trichomonadida con las siguientes familias: Trimastigidae y Trichomonadidae. Honigberg no entiende por qué Grassé incluye Trimastigidae en el orden Trichomonadida, ya que el género *Trimastix* está separado claramente de los tricomonádidos por la estructura del núcleo y por el modo de división.

Reichenow (1952) no acepta el orden de Kirby, pero agrupa a todos los tricomonádidos en la familia Trichomonadidae dentro del orden Polymastigida. Los monocercomonádidos, tricomonádidos y devescovichidos fueron considerados como grupos subfamiliares y los calónifidos fueron tratados como una familia aparte, en el mismo orden. Grell (1956) simplifica la clasificación de estos organismos incluyendo sólo tres familias: Trichomonadidae, Calonymphidae e Hypermastigidae, en el orden Polymastigida. La familia Trichomonadidae se dividió según la presencia o ausencia de un flagelo recurrente.

Honigberg (1963) examina las especies de esta familia, corrige una subfamilia y crea dos más, por lo que estableció tres subfamilias: Trichomonadinae (Chalmers

y Pekkola, 1918) Honigberg, 1963, Tritrichomonadinae Honigberg, 1963 y Pentatrichomonadinae Honigberg, 1963. Posteriormente Brugerolle (1976) realiza un amplio estudio ultraestructural y crea una nueva subfamilia Trichomitopsinae para situar a los géneros *Trichomitopsis* Kofoed y Swezy, 1919 y *Pseudotrypanosoma* Grassi, 1917 (incluidos previamente en la subfamilia Tritrichomonadinae) ya que presentan caracteres comunes a las subfamilias Trichomonadinae y Tritrichomonadinae. Por lo que finalmente queda establecida la división de la familia en cuatro subfamilias: Pentatrichomonadinae Honigberg, 1963, Trichomonadinae (Chalmers y Pekkola, 1918) Kirby, 1944, Trichomitopsiinae Brugerolle, 1976 y Tritrichomonadinae (Honigberg, 1963) Brugerolle, 1976.

Los géneros de las subfamilias están estrechamente relacionados: Mehra, Levine y Reber (1960), por ejemplo, observan en el estudio en columna cromatográfica de las hidrolasas de *Tritrichomonas foetus*, *T. suis*, *Trichomonas gallinae*, *Tetratrichomonas gallinarum* y *T. buttrei*, que todas ellas están compuestas de los mismos aminoácidos pero existen algunas diferencias en cuanto a las cantidades de cada aminoácido que aparecen en las diferentes especies.

Morgan (1943-1946) y Trusell (1947) presentan una lista de hospedadores de las especies de tricomonádidos. Hay varias especies en animales domésticos y en el hombre (*Trichomonas vaginalis*, *T. tenax* y *Pentatrichomonas hominis*) pero la nomenclatura y las relaciones parásito-hospedador de muchos de ellos no están claras todavía. Han sido observadas en las cavidades corporales de prácticamente todas las especies de mamíferos o aves que han sido examinados y también se encuentran en reptiles, anfibios, peces y muchos invertebrados (por ejemplo son muy numerosos en termitas). Peculiarmente, no se conocen en conejos u otros lagomorfos. En general, la mayoría son comensales no patógenos, pero podemos encontrar unos cuantos que sí lo son, como por ejemplo *Trichomonas vaginalis* en el hombre.

2.5.1.4.1. SUBFAMILIA TRICHOMONADINAE (CHALMERS Y PEKKOLA, 1918) KIRBY, 1946

Género tipo: *Trichomonas* Donné, 1836.

Chalmers y Pekkola (1918) crean esta subfamilia para incluir a organismos "tetramitidae con un axostilo" e incluyeron en la subfamilia ocho tricomonádidos y dos géneros que no lo son (*Monocercomonoides* Travis, 1932 y *Polymastix* Bütschli, 1844).

Ahora, esta subfamilia, contiene sólo cuatro géneros (que poseen una membrana ondulante soportada por una costa):

- *Trichomonas*, con flagelo posterior sin porción libre y cuatro flagelos anteriores.
- *Trichomitus*, con flagelo posterior con porción libre, tres flagelos anteriores y el cuerpo parabasal con forma de "V" (ocasionalmente de varilla).
- *Tetratrichomonas*, con flagelo posterior con porción libre, cuatro flagelos anteriores y cuerpo parabasal con forma de disco generalmente.

- *Pentatrichomonas*, con flagelo posterior con porción libre, cinco flagelos anteriores, de los cuales cuatro están agrupados juntos en la base y uno es independiente y el cuerpo parabasal parece estar compuesto de gránulos pequeños.

Parece ser que el origen de esta subfamilia puede derivarse directamente de *Hypotrichomonas*, pues en muchos aspectos (flagelos anteriores, axostilo y cuerpo parabasal del género *Trichomitus*) se asemeja mucho a los orgánulos homólogos de *Hypotrichomonas*, pues al estar equipados con una membrana ondulante débilmente desarrollada y una costa muy delgada, parece representar un eslabón de conexión entre *Hypotrichomonas* y la mayor parte de las especies de *Trichomitus* (por ejemplo, *T. batrachorum*). Aunque es evidente que *Trichomitus*, aparentemente más próximo a la línea evolutiva principal, ostenta más características morfológicas de la subfamilia que *Trichomonas*, hay razones taxonómicas válidas (Code Zool. Nomencl.) para la retención de los nombres de familia Trichomonadida y subfamilia Trichomonadinae. Si estos nombres deben ser retenidos, el género *Trichomonas* tiene que ser mantenido como tipo de este taxón. Existe una línea evolutiva con los géneros *Trichomitus* → *Tetratrichomonas* → *Pentatrichomonas* (los cuales derivan de *Hypotrichomonas*, que a su vez procede de *Monocercomonas*).

Los flagelados de esta familia poseen de 3 a 5 flagelos anteriores y un flagelo posterior recurrente que es total o la parte proximal está incorporada a lo largo del filamento accesorio en el margen de la membrana ondulante. El complejo flagelar está completo. La membrana es de longitud y de grado de desarrollo variable. La costa suele ser bastante delgada. El axostilo se continúa anteriormente en la pelta. El tronco del axostilo es hialino, con forma de varilla normalmente delgado y se proyecta por la superficie posterior del cuerpo en una punta axostilar. El cuerpo parabasal tiene forma variable.

2.5.1.4.1.1. Género *Trichomitus* Swezy, 1915

Especie tipo: *Trichomitus batrachorum* (Perty, 1852) Honigberg, 1963.

Recientes estudios sobre los flagelados del tipo *T. batrachorum* sugieren la posibilidad de que más de una especie morfológica de *Trichomitus* pueda encontrarse entre los hospedadores, anfibios y reptiles. Los caracteres diferenciales serían: la relativa longitud y grado de desarrollo de la membrana ondulante y detalles de la estructura del axostilo y del aparto parabasal.

Entre las especies estudiadas con ayuda de modernas técnicas citológicas, las cuales son congénereas con *T. batrachorum*, están: *T. fecalis* Cleveland, 1982, *T. marmotae* Crouch, 1933, *T. rotunda* Hibler, Hammond, Caskey, Johnson y Fitzgerald, 1960 y *T. ulmeri* Gabel, 1954.

T. batrachorum no es congénere ni con *Trichomonas vaginalis* Donné, 1837 ni con *Tritrichomonas augusta* Alexeieff, 1911. Este hecho ha sido destacado por muchos observadores. Gabel (1954) tuvo suficiente poder de convicción para establecer un

nuevo género, *Paratrachomonas*, con los organismos del tipo *T. batrachorum* y especies similares. Honigberg aceptó el género *Paratrachomonas* pues pudo confirmar experimentalmente que *P. marmotae* era congénere con *T. batrachorum*, pero debido a que Swezy en 1915 había creado un género aparte para las mencionadas especies de anfibios y la marmota americana, el nombre creado por Swezy debe tener prioridad ante el nombre *Paratrachomonas* de Gabel. Así *P. batrachorum* pasaría a ser sinónimo de *Trichomitus batrachorum* y *P. marmotae* sinónimo de *T. marmotae*.

2.5.1.4.1.1.1. Especie *Trichomitus batrachorum* (Perty, 1852) Honigberg, 1963

Sinónimos: *Trichomonas batrachorum* Perty, 1852; *Paratrachomonas batrachorum* Gabel, 1954; *Trichomonas lacertae* Prowazek, 1904; *Trichomonas alexeieffi* Grassé, 1926; *Trichomonas natricis* Coutelen y col., 1948.

Hospedador: *Adelotus brevis*, *Anguis fragilis*, *Assa darlingtoni*, *Breviceps adspersus*, *Bufo espinulosus*, *B. marinus*, *Cacosternum boettgeri*, *C. nanum*, *Chiromantis xerampelina*, *Cophixalus ornatus*, *Cyclorana brevipes*, *C. novaehollandiae*, *Hyla arborea*, *H. meridionalis*, *H. pickersgilli*, *H. tuberilinguis*, *Kassina maculata*, *Lacerta muralis*, *Leptopelis natalensis*, *L. mossambicus*, *Litoria alboguttata*, *L. caerulea*, *L. chloris*, *L. cyclorhyncha*, *L. dahlii*, *L. dentata*, *L. ewingii*, *L. fallax*, *L. gracilentia*, *L. inermis*, *L. latopalmata*, *L. lesueuri*, *L. moorei*, *L. nasuta*, *L. nigrofrenata*, *L. nyakalensis*, *L. pallida*, *L. peronii*, *L. revelata*, *L. rheocola*, *L. rothii*, *L. rubella*, *L. tornieri*, *L. tyleri*, *Limnodynastes convexiusculus*, *L. dorsalis*, *L. dumerillii*, *L. ornatus*, *L. peronii*, *L. salmini*, *L. tasmaniensis*, *L. terraereginae*, *Mixophyes fasciolatus*, *M. iteratus*, *M. schevilli*, *Natrix natrix*, *Natrix viperinus*, *Neobatrachus centralis*, *N. pelobatoides*, *N. pictus*, *Nyctimystes dayi*, *Phrynobatrachus natalensis*, *Phrynomerus bifasciatus*, *Pseudophryne bibronii*, *P. coriacea*, *Ptychadena oxyrhynchus*, *Pyxicephalus adspersus*, *Rana angolensis*, *R. daemeli*, *R. dalmantina*, *R. esculenta*, *R. fuscigula*, *R. perezii*, *R. pipiens*, *R. ridibunda*, *R. temporaria*, *Ranidella bilingua*, *R. parinsignifera*, *R. signifera*, *Sphenophryne robusta*, *Semnodactylus wealii*, *Strongylopus grayii*, *Taudactylus rheophilus*, *Tomopterna cryptotis*, *T. delalandii*, *T. krugerensis*, *T. natalensis*, *Uperoleia laevigata* y *Xenopus laevis*.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: África del Sur, Australia, Europa y Perú. Su presencia en España sólo había sido señalada por Carrera-Moro y col. (1987) en *H. meridionalis* y *R. perezii* de las Islas Canarias.

Fue visto probablemente hace más de 250 años por Anthony van Leeuwenhoeck (Dobell 1909, 1932). Parásito común del tubo digestivo posterior de especies de ranas y sapos.

Los tricomonádidos que albergaban las ranas fueron inicialmente denominadas por Perty en 1852 como *Trichomonas batrachorum*. Alexeieff en 1911 reconoce dos especies distintas de tricomonádidos en anfibios anuros: *Trichomonas batrachorum* Perty, 1852 y *Trichomonas augusta* (= *Trichomonas batrachorum* pro parte).

Posteriormente Honigberg (1963) los transfiere a *Trichomitus batrachorum* y *Tritrichomonas augusta* respectivamente.

Ciclo biológico.

Se multiplican por fisión longitudinal binaria. Los estados sexuales no se conocen.

Según Whittington (1951), en la división, el flagelo, la membrana ondulante y la costa, son distribuidos de la forma usual característica, el axostilo desaparece y cada futura célula hija desarrolla los elementos de los orgánulos desaparecidos antes de la citocinesis. No forma quistes. La infección natural es presumiblemente por contaminación con *Trichomitus* libres. Sin embargo, Brugerolle en 1973 estudia por microscopía electrónica los quistes de *T. batrachorum* y afirma que existen quistes verdaderos junto a otras formas pseudoquisticas, diferenciándolas entre sí por la presencia o ausencia de una envuelta quística. También considera la posibilidad de división celular en el interior del quiste, ya que aparecían quistes con dos núcleos y dos axostilos.

2.5.1.4.1.2. Género *Tetratrichomonas* Parisi, 1910

Especie tipo: *Tetratrichomonas prowazeki* (Alexeieff, 1909) Alexeieff, 1911.

La evolución de varios géneros de la subfamilia Trichomonadinae está marcada por el número de flagelos anteriores, acompañado de diferencias en la estructura de otros orgánulos del mastigote. El primer paso evolutivo puede estar representado por dos géneros: *Tetratrichomonas* y *Trichomonas*. En las especies de algunos de los géneros de la subfamilia Trichomonadinae, se ha visto que el cuarto flagelo anterior surge bastante más tarde, antes o inmediatamente después de la citocinesis y por lo tanto, en poblaciones en división activa pueden aparecer organismos jóvenes con tres flagelos. Cada género está caracterizado por ciertos rasgos, que son compartidos con *Trichomitus*, con la excepción de poseer un cuerpo parabasal en forma de disco, el cual, aunque sencillo, está generalmente acompañado por dos filamentos parabasales y además existen ciertas diferencias en la estructura del capítulo. Muchos miembros de *Tetratrichomonas* se parecen a organismos pertenecientes a *Trichomitus* y por eso no debe sorprender que Bishop (1931), incapaz de ver el aparo parabasal y el capítulo del axostilo en las tricomonas de ranas y sapos, situara las formas de cuatro flagelos anteriores junto a ciertos organismos que poseían sólo tres, en *T. batrachorum*.

La mayoría de los tricomonádidos con un flagelo posterior y cuatro anteriores, que han sido examinados con ayuda de métodos citológicos modernos - *T. prowazeki* (Alexeieff, 1909) Alexeieff, 1911, *T. brumpti* Alexeieff, 1911, *T. buttreysi* Hibler, Hammond, Caskey, Johnson y Fitzgerald, 1960, *T. gallinarum* Martin y Robertson, 1953 y *T. guttula* Kirby y Honigberg, 1949 - poseían un cuerpo parabasal con forma de disco y un gránulo central diferenciado. Sin embargo hay una especie *Tetratrichomonas limacis* Dujardin, 1945 que a pesar de que posee todas las características asociadas con

el género *Tetratrichomonas*, su aparato parabasal tiene forma de "V". Esta especie podría representar una forma transitoria entre *Trichomitus* y *Tetratrichomonas*.

Aunque no se puede saber cuál de los dos géneros (*Trichomonas* y/o *Tetratrichomonas*) deriva de *Trichomitus*, parece ser que *Tetratrichomonas*, por rasgos morfológicos y fisiológicos, está más próximo a la principal línea de evolución.

2.5.1.4.1.2.1. Especie *Tetratrichomonas prowazeki* (Alexeieff, 1909) Alexeieff, 1911

Sinónimos: *Tetratrichomonas batrachorum* Escomel; *Tritrichomonas apectus* Moskowitz.

Hospedador: *H. meridionalis*, *Iguana iguana rhinolopha*, *Limnodynastes dorsalis*, *Rana perezi*, *Telmatobius gebbski* y *Varamus salvator*.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: Australia, Europa y Perú. En España sólo ha sido citada anteriormente por Carrera-Moro y col. (1987) en *H. meridionalis* y *R. perezi* de las Islas Canarias.

Escomel encontró un parásito en *Telmatobius gebbski*, al que llamó *Tetratrichomonas batrachorum* y posteriormente se comprobó que se trataba de la especie *T. prowazeki*.

Ciclo biológico.

Se reducen por fisión longitudinal binaria, los estados sexuales no se conocen y no forman quistes.

Se encuentran ampliamente repartido entre los anfibios y reptiles escamosos y habita en el intestino grueso.

2.5.1.5. FAMILIA TRYPANOSOMATIDAE DOFLEIN, 1911

Incluye los géneros: *Blastocrithidia*, *Crithidia*, *Endotrypanum*, *Herpetomonas*, *Leishmania*, *Leptomonas*, *Phytomonas*, *Rhynchoidomona* y *Trypanosoma*.

Los trofozoítos de esta familia tienen un flagelo único, libre o fijado al cuerpo con una membrana ondulante. El kinetoplasto es relativamente pequeño y compacto. Son parásitos.

2.5.1.5.1. Género *Trypanosoma* Gruby, 1843

Especie tipo: *Trypanosoma rotatorium* Mayer, 1843.

Trypanosoma fue erigido en 1843 por Gruby de un tripanosoma observado en la sangre de la *Rana esculenta* de Europa.

Se dividen en dos grupos amplios o secciones que se basan en las características de su desarrollo en el hospedador invertebrado:

- **Sección Salivaria:** las especies se multiplican en la porción anterior del tubo digestivo.
- **Sección Estercoraria:** las especies se multiplican en la porción posterior del tubo digestivo.

Según Cox (1993) el principal problema de los tripanosomas se encuentra en el uso de subgéneros, especies, subespecies y zimodemos. El género está bien establecido y se puede dividir en un número de subespecies: *Duttonella*, *Herpetosoma*, *Megatrypanum*, *Nannomonas*, *Pycnomonas*, *Schizotrypanum*, *Tejeraia* y *Trypanozoon*.

Los tripanosomas parasitan la sangre, fluidos tisulares o tejidos de toda clase de vertebrados, entre ellos el hombre. Las sanguijuelas transmiten las especies parásitas de elasmobranchios y peces (Becker, 1977; Lom, 1979), urodelos y algunos anuros (Brumpt, 1906; Franca, 1915; Barrow, 1954; Diamond, 1958; Bardsley y Harmsen, 1973); los flebotómidos pueden ser también vectores para las ranas.

Ciclo biológico.

Comprende estados de desarrollo en el hospedador vertebrado e invertebrado, caracterizado por cambios morfológicos que implican la reposición de la base flagelar y del complejo kinetoplasto con respecto al núcleo y al extremo anterior del cuerpo celular. Se conocen los siguientes tipos:

1. El estado promastigote tiene la base flagelar cerca del extremo anterior del cuerpo del cual se origina.
2. El estado amastigote, tiene la base flagelar delante del núcleo, pero el flagelo no sobresale.
3. La forma epimastigote también tiene la base del flagelo delante del núcleo, pero forma una membrana ondulante que corre a lo largo del extremo anterior del cuerpo.
4. En la forma tripomastigote, la base flagelar se sitúa detrás del núcleo, pero también presenta la bolsa flagelar y la membrana ondulante.

La división celular de los tripanomas se inicia con una replicación del cuerpo basal y continúa con una división del kinetoplasto y del núcleo (Burton and Dusanic, 1968; Inoke y Ozeki, 1969). El cuerpo basal nuevo se encuentra inicialmente perpendicular al flagelo. A continuación se desarrolla el flagelo hijo el cual se encuentra más o menos paralelo al cuerpo basal más antiguo y posteriormente el cuerpo basal nuevo rota a una posición paralela al antiguo. El kinetoplasto se divide por fisión ecuatorial o longitudinal.

2.5.1.5.1.1. Especie *Trypanosoma rotatorium* Mayer, 1843

Sinónimos: *Amoeba rotatoria* Mayer, 1843; *Paramecio loricatum* Mayer, 1843; *Trypanosoma loricatum* Dutton y col., 1907.

Hospedador: *Bufo gargarizans*, *Rana esculenta*, *R. limnocharis*, *R. nigromaculata*, *R. perezi*, *R. ridibunda*, *R. rugosa* y *Rhacophorus japonicus*.

Localización: Tejido sanguíneo.

Distribución: África, Asia, Europa y América del Norte. No ha sido citada anteriormente en la Península Ibérica.

T. rotatorium fue originalmente descrito como *Amoeba rotatoria* en la sangre de *R. esculenta* de Europa (Mayer, 1843). La descripción de Mayer fue publicada tres meses antes de las descripciones de Gruby (1843) de *Trypanosoma sanguinis*, el cual se pensaba que era el mismo que la especie de Mayer, por lo tanto *T. rotatorium* llegó a ser la especie tipo del género. La descripción original y los dibujos del material no teñido de Mayer hace que no se pueda visualizar correctamente. Franca y Athias (1906), sin embargo, ilustraron un tripanosoma con un núcleo fusiforme como *T. rotatorium* y Laveran y Mesnil (1912) ilustraron otro tripanosoma diferente como *T. rotatorium*. Creían que tenían una sola especie de tripanosoma con varias formas pero su "rotatorium" consistía en tres diferentes especies. Kudo (1922) siguió su opinión e identificó otras especies con un núcleo redondo como *T. rotatorium* y más tarde algunos protozoólogos canadienses y americanos excepto Diamond (1958), siguieron la clasificación de Kudo (Fantham y col., 1942, Nigrelli, 1944, Woo, 1969, Desser y col. 1973). Miyata y col. (1992) examinaron extensivamente las cuatro figuras de *Amoeba rotatoria*. No pudieron determinar si el tripanosoma tenía el núcleo redondo o fusiforme, pero como los tripanosomas de núcleo fusiforme son muy comunes en Europa y al menos una de las figuras de Mayer puede ser idéntica a estos tripanosomas, Miyata siguió las opiniones de Franca y Athias (1906) y Diamond (1958), al que siguieron Barta y col (1989) y Werner (1993).

Ya Delvinquier en 1989 afirmaba que habían sido citados *T. rotatorium* de todas las regiones zoogeográficas del mundo en Bufonidae, Hylidae, Leptodactylidae, Myobatrachidae, Pipidae, Ranidae y Rhacophoridae. Pero es probable que por ignorancia, se haya dado este nombre a los tripanosomas de anuros y que además, debido a la descripción tan incierta de Mayer, pueda existir una mezcla de poblaciones de tripanosomas. La mayoría de las descripciones están basadas en observaciones morfológicas que son de limitado valor con organismos tan polimorfos como es *Trypanosoma*. Bardsley y Harmsen (1973) revisan la fisiología, ecología y factores físicos que afectan a la morfología de *Trypanosoma*. Ellos señalan que la morfología de unas determinadas especies de tripanosomas está afectadas por la especie de hospedador que parasitan.

Según Barta (1989) *T. rotatorium* sensu Kudo, 1922, de anfibios en América del Norte está claramente relacionados con *T. loricatum* de los anfibios de Eurasia, sin embargo opina que la diversidad genética de *T. loricatum* podría ser bastante grande para acompañar las formas de América del Norte. Las medidas de *T. rotatorium* sensu Kudo, 1922, en *R. clamitans* son más grandes que *T. loricatum* señaladas en el trabajo

de Barta (1989), el citoplasma más granulado y le falta el patrón de fibrillas longitudinales visto en *T. loricatum*. Por eso, Barta opina que debido a estos datos no se debe cambiar el nombre de *T. rotatorium* por *T. loricatum*, de echo, *T. rotatorium* sensu Kudo, 1922, también recuerda en tamaño y forma a *T. miyagii* Miyata, 1978 de ranas de Japón y por tanto se deben realizar estudios bioquímicos comparativos entre estas especies y quizás un nuevo nombre deba ser asignado a *T. rotatorium* sensu Kudo, 1922.

2.5.1.5.1.2. Especie *Trypanosoma loricatum* Mayer, 1843

Sinónimos: *T. rotatorium* Kudo, 1922; Miyata, 1976; *T. costatum* Diamond, 1965; *Paramecium loricatum* Diamond, 1965.

Hospedador: *Hemidactylus fasciatus*, *Rana esculenta*, *R. holsti*, *R. narina*, *R. perezii*, *R. nigromaculata* y *R. ridibunda*.

Localización: Tejido sanguíneo.

Distribución: Cosmopolita excepto en América del Norte y Australia. No ha sido citada anteriormente en la Península Ibérica.

Existen diferencias entre las formas de *T. loricatum* entre poblaciones geográficamente aisladas de la misma especie de hospedador y entre diferentes especies de hospedadores (Bardsley y Harmsen, 1973; Barta y Dessler, 1984; Diamond, 1965; Miyata, 1978; Woo, 1969).

2.5.1.6. *Incertae sedis*

2.5.1.6.1. Género *Rhizomastix* Alexeieff, 1911

Especie tipo: *Rhizomastix gracilis* Alexeieff, 1911.

Según Wenyon (1926) el género *Rhizomastix* pertenece a la familia Monadidae, suborden Eumonadea, orden Protomonadida, subclase Zoomastigina, clase Mastigophora, subfilo Plasmodroma y según Kudo (1966) pertenece a la familia Mastigamoebidae, subclase Zoomastigia, clase Mastigophora.

En 1989, Lee hace una pequeña revisión del orden Rhizomastigida y afirma que en la primera clasificación de la Sociedad de Protozoólogos (Honigberg y col., 1964) éste fue usado para colocar a los ameboflagelados. Incluso entonces se reconocía que el orden era muy artificial. Los autores de los principales libros de texto de protozoos (Hall, 1953 y Kudo, 1966) difieren en la inclusión de varios géneros. En la clasificación de Levine y col. (1980) se suprimió el orden. Actualmente se incluyen en él protozoos no flagelados, siendo distribuidos la mayoría de los géneros flagelados que pertenecían a este orden, en otros órdenes y el resto de los géneros, entre ellos *Rhizomastix*, que sido colocados en *incertae sedis*.

Este género sólo presenta la especie *Rhizomastix gracilis* Alexeieff, 1911. Fue descrito por Alexeieff, del intestino de axolotes, por Mackinnon (1914) de larvas de *Tipula* sp. y listado por Geiman (1932) de larvas de *Tipula abdominalis*.

2.5.2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE OPALÍNIDOS

Según Dobell (1932) las opalinas fueron descritas e ilustradas primero por Leeuwenhoeck en 1683 y, posteriormente, en 1835 Purkinje y Valentin crearon el género *Opalina* (debido al color opalescente del organismo vivo). En 1876, Engelman describió los quistes de opalinas y estados desarrollados en renacuajos. Zeller (1877) encontró que durante la estación en que se reproducen los hospedadores, los protozoos se dividían por una serie de divisiones rápidas (longitudinales y transversales), terminando en enquistamiento. Neresheimer en 1907 descubrió posibles gametos y estados sexuales en renacuajos y comprobó por primera vez que el enquistamiento precedía a la gametogénesis y que los quistes son los estados infectantes que se encuentran en el intestino de los renacuajos, aunque también describió varios fenómenos que fueron posteriormente enmendados.

Metcalf (1909), Brumby (1915) y Konsuloo (1922) estudiaron la historia del ciclo de vida de *O. ranarum*; después Honigberg (1925), Kate (1927), Van Overbeek de Meyer (1929) y Chatton y Brachon (1936) su estructura; Chen (1936, 1948) hizo un detallado estudio de los opalínidos binucleados y descubrieron que tenían una mitosis normal. Cosgrove (1947) estudió el modelo de fibrillas de *O. obtrigonoidea* de *Rana pipiens* en América del Norte y Pitelka (1956) sobre estructuras ectoplasmáticas de la misma especie. En España, Fernández Galiano (1947) publicó observaciones citológicas sobre las opalinas.

Características generales.

Los opalínidos, en un principio fueron consideradas ciliados, pero existen particularidades morfológicas que han hecho dudar a muchos, en considerarlas como verdaderos ciliados:

- Los núcleos que poseen son de una clase, en contraposición a los ciliados que poseen un macronúcleo y un micronúcleo diferentes entre sí en cuanto a tamaño, estructura y modo de división. En las opalinas los núcleos son monomórficos y se dividen por mitosis, aunque se diferencian por ciertas singularidades estructurales.
- Están cubiertas de órganos locomotores llamados cilios (por la mayoría de los protozoólogos), flagelos (por unos pocos) o undilipodia (por otros). Las asociaciones fibrilares de los kinetosomas no son como los de los ciliados y tienen más kinetosomas y kinetias (fila de cilios) en el margen anterior, terminando en la hoz.
- No tienen citostoma ni citofaringe y la ingestión se produce por una pinocitosis modificada.
- Se reproducen sexualmente por singamia (fusión de gametos) y no por conjugación y la reproducción asexual se produce por escisión más o menos longitudinal, (plasmotomía). La fisión binaria es normalmente interkinetal o simetrogénica pero también pueden fragmentarse por división transversal a las kinetias de manera similar a los ciliados. La meiosis es prezigótica (Kaczanowski, 1971) con singamia entre los micro y macrogametos, en el intestino del hospedador. En los quistes también se produce la singamia y también hay quistes durante su reproducción asexual.

Las últimas investigaciones en el microscopio electrónico muestran que no hay una estructura fundamental diferente entre ciliados y flagelados, aunque estos orgánulos o sus derivados se encuentran prácticamente en todos los grupos de animales y en algunos de los vegetales y esta posesión no implica una relación cercana.

El movimiento de las opalinas es debido a un batir metacronal de numerosos flagelos que se distribuyen en filas que van directamente o curvándose de un polo de la célula hacia el otro. Entre las kinetias se encuentran pliegues paralelos que es donde la luz se refleja y produce la difracción (erróneamente denominada opalescencia).

2.5.2.1. FAMILIA OPALINIDAE CLAUS, 1874

Debido a la presencia de numerosos flagelos en su superficie y a la ausencia de boca, las opalinas fueron consideradas primeramente como Holotricha, Astomata, una parte de lo que ahora es conocida como Ciliophora (Stein, 1860, 1867; Quennerstedt, 1865; Kent, 1881-1882; Bütschli, 1889; Schewiakoff, 1896; Metcalf, 1909; Poche, 1913).

El más notable investigador de las opalinas fue Metcalf, quien dedicó 34 años de su vida al estudio de estos protozoos. Describió la mayoría de las especies conocidas y las incluyó en cuatro géneros distintos: *Protoopalina* Metcalf, 1918 (binucleada, cilíndrica), *Zelleriella* Metcalf, 1920 (binucleada, aplanada), *Cepedea* Metcalf, 1920 (multinucleada, cilíndrica) y *Opalina* Purkinje y Valentin, 1835 (multinucleada, aplanada). Metcalf consideraba a las opalinas como ciliados primitivos basándose en: su cubierta de cilios, su único tipo de núcleos conteniendo macro y microcromosomas y su fisión binaria, que podía ser longitudinal o transversal; por tanto, estableció para ellos la subclase Protociliata (1918), dejando la Euciliata para el resto de los ciliados. En 1920 dividió la familia en dos subfamilias:

- Protoopalinae, incluyendo a los géneros que tienen dos núcleos: *Protoopalina* y *Zelleriella*.
- Opalininae, con géneros de más de cuatro núcleos: *Opalina* y *Cepedea*.

En 1926 Wenyon introduce una nueva clase, Opalinata, dentro del subfilo Ciliophora para acomodar a los parásitos del género *Opalina*. La clasificación de Wenyon permaneció en uso, sin apenas modificación, durante mucho años. Divide al Subfilo Ciliophora en dos grupos:

- Grupo 1 Protociliata con la clase Opalinata y orden Opalinida, con una sola familia, Opalinidae y dos subfamilias: Protoopalinae y Opalininae.
- Grupo 2 Euciliata con la clase Ciliata.

Sin embargo, los Protozoólogos franceses no estaban de acuerdo con las teorías de Metcalf. Siguiendo la sugerencia hecha por Hartog (1906) y Neresheimer (1907) de colocar a los opalínidos con los flagelados, Lwoff y Valentini (1948), Fauré-Fremiet (1950, 1953), Grassé (1952), Jirovec y col. (1953) y Corliss (1955), cambiaron la hipótesis de protociliado y transfirieron a los opalínidos de los ciliados a los mastigóforos basándose en su núcleo monocariótico, fusión de gametos durante su ciclo de vida y su modo de fisión únicamente longitudinal.

Estas diferencias de opiniones fueron parcialmente resueltas por Wessenberg (1962) quien demostró que el plano de escisión del género *Opalina* puede ser

longitudinal como en los flagelados o transversal como en los ciliados. Recomendó que el grupo Opalinata fuera colocado en una posición intermedia e independiente de los flagelados y ciliados.

Todos los protozoólogos de la Sociedad de Protozoólogos (Honigberg y col, 1964) estaban de acuerdo en afirmar que los opalinidos eran unos parásitos muy especializados y por lo tanto no podían ser los progenitores directos de los ciliados, ni ser considerados "Protociliata" como decía Metcalf. Las opalinas fueron colocadas en el orden Opalinida, superclase Opalinata y subfilo Sarcomastigophora. Esto trajo a las opalinas cerca de los flagelados y separadas de los ciliados, las cuales fueron elevadas al subfilo Ciliophora.

Kudo (1966) estaba de acuerdo en que los opalinidos diferían completamente de los ciliados, con la excepción de que tenían cilios y los incluyó en el orden Opalinida, excluyéndolos de la clase Ciliata. Tampoco consideró la división en subfamilias. Sin embargo, Amaro (1966) sí incluyó al orden Opalinida en la superclase Opalinata, subfilo Sarcomastigophora y siguió manteniendo las dos subfamilias Protoopalininae y Opalininae, los subgéneros anteriores y al mismo tiempo creó otros nuevos.

Earl (1971) propuso el género *Hegneriella*, para la especie *H. dobelli* que observó en la cloaca de *Bufo valliceps*, señalando que era como *Zelleriella* pero con un sólo núcleo y muy grande. En 1973, incluyó *Cepedea lanceolata* Bezenberger, 1904 en un nuevo género *Bezenbergeria* que definió como semejante a *Cepedea* pero con cuatro núcleos. Sugirió que los opalinidos con uno, dos, cuatro, ocho y dieciséis núcleos fueran colocados en géneros separados. Esto fue poco aceptado porque se ha comprobado que en las formas binucleadas, la división nuclear en ocasiones no va acompañada de la división citoplásmica, por tanto pueden aparecer formas intermedias y por eso, la distinción entre géneros basadas en el número de núcleos no es absoluta. También incluyó muchos géneros y subespecies en el grupo de descripción inadecuada.

En la clasificación de Levine (1973) incluye a las opalinas dentro del subfilo Sarcomastigophora, orden Opalinorida, clase Opalinasida, superclase Opalinasica mientras que Baker (1973) también las incluye en el subfilo Sarcomastigophora, pero en el orden Opalinida, superclase Opalinata.

Mignot (citado por Brugerolle y Joyon, 1975) fue el primer protozoólogo que sugirió que los proteromonádidos y los opalinidos estaban relacionados, debido a la ordenación similar de los microtúbulos subpeliculares debajo de la membrana, en la hoz y por la forma única de pinocitosis heterótrofa. En 1978, Wessenber fue mucho más lejos al afirmar que si comparamos las características de las opalinas con otros grupos de protozoos, es evidente que se ajustan a la definición de Hyman (1940) para formar un filo, ya que, aunque las opalinas no sean un grupo muy grande (400 especies aproximadamente en cuatro géneros aunque, algunas de las especies descritas por Metcalf (1923, 1940) estén basadas en muy pocos individuos y algunos de los criterios que usó para distinguir especies son irreales, por lo tanto el número actual de especies puede ser más bajo), son únicas en su morfología, mitosis, fisión y ciclo de vida y por tanto, deben ser colocadas en su propio filo, Opalinata.

Sin embargo, Jahn y col. (1979) todavía no tiene en cuenta esto. Elevaron el filo Protozoa a subreino Protozoa y crearon el reino Protista. Incluyeron la familia

Opalinidae en el orden Opalinida, clase Opalinatea, subfilo Zoomastigophora y filo Mastigophora. Tampoco dividen la familia en subfamilias.

En 1985, Lynn y Small crearon para la clase Opalinatea, el subfilo Opalinata, elevando a filo, Sarcomastigophora y a subreino, Protozoa, con lo que la Sociedad de Protozoólogos (Levine y col., 1980) están de acuerdo y lo incluyen en la nueva revisión de la clasificación de los protozoos.

Patterson (1985) y Delvinquier y Patterson (1993), por otro lado, afirman que los géneros presentan suficiente similitud como para ser considerados dentro de una familia pero que los taxones superiores no son apropiados hasta que la evolución de la familia sea mejor entendida o sus propuestas, más ampliamente aceptadas. Pero aconsejan, por sus características ultraestructurales, que la familia sea clasificada en el orden Slopalinida junto con la familia Proteromonadidae.

Puytorac, Grain y Mignot (1987) vuelven a dividir a la familia en las dos subfamilias habituales. Tienen en cuenta la propuesta de Wessenber (1978) e incluyen al orden Opalinida en el filo Opalinata dentro del subreino Protista, el cual Sleight (1989) eleva a reino Protista y sugiere una clasificación que acepte la existencia de cuatro grupos mayores: flagelados, amebas, ciliados y esporozoos. Por el contrario, Schmidt y Roberts (1989) de nuevo vuelven a incluir a los opalinidos en el subfilo Opalinata, filo Sarcomastigophora y Margulis y col. (1990) consideran a Opalinata como clase y la asignan al nuevo filo, Zoomastigina.

Usando información procedente del microscopio electrónico se han visto afinidades con otros protozoos. Una visión reciente refleja que las opalinas han evolucionado del mismo stock que el de las algas crisófitas (Mignot y Molina, 1988; Patterson, 1989), sin embargo ésto no se ha demostrado en los últimos análisis cladistas (Lipscomb, 1993).

Delvinquier y col., (1991) añaden el último género a la familia: *Protozelleriella*, que es binucleada con hoz marginal larga y delgada y su superficie celular no está completamente cubierta de kinetias.

En 1993, Cox eleva el subfilo Opalinata a filo, separando a las opalinas del filo Sarcomastigophora, pero lo incluye en el grupo 1 junto con los protozoos flagelados. Si

Cavalier-Smith (1993) crea el filo Opalozoa para incluir a las opalinas clasificándolas de la siguiente manera: Imperio Eukaryota, superreino Archezoa, reino Protozoa, subreino Dictyozoa, rama Bikonta, infrarreino Neozoa, parvirreino Ciliomyxa, superfilo Opalomyxa, filo Opalozoa, subfilo Opalinata, clase Opalineia y orden Opalinida.

Los opalinidos son parásitos endocomensales que viven habitualmente en el intestino de los anfibios anuros, aunque también se encuentran, pero con menos frecuencia, en urodelos, peces, reptiles e incluso alguna especie de caracoles, insectos y moluscos, que puede ser una adquisición secundaria proveniente de los quistes que van en las heces de los anuros. También es interesante destacar que hasta ahora las opalinas encontradas en peces y reptiles son de los géneros *Protoopalina* Metcalf, 1918 y *Zelleriella* Metcalf, 1920, consideradas como las más arcaicas. Se localizan fundamentalmente en la parte anterior de la dilatación rectal que desemboca en un ciego. Su tamaño es de moderado a grande, a veces sobrepasan el milímetro.

Es corriente encontrar varios miles de opalinas en el intestino posterior del hospedador perfectamente sano. No existen pruebas de que las opalinas perjudiquen al hospedador, en ningún estadio de su ciclo biológico. Pueden obtener su alimento, tanto de los líquidos intestinales que llegan al recto, como de sus secreciones mucosas, pero no atacan la mucosa ni la atraviesan, luego podemos considerar que no son patógenas para su hospedador. Además, los anfibios, al permanecer durante mucho tiempo en cautividad, no contienen ni opalinas ni ciliados. Por tanto, Odening (1955) considera la ausencia de estos parásitos como indicativos de condición patológica del hospedador, al mantener en cautiverio puede ser que la situación refleje efectos perjudiciales. Odening admite la presencia de opalinas como obligatoria en individuos sanos.

Según Stabler y Chen (1936), las opalinas pueden formar simbiosis con *Entamoeba ranarum* Grassi, 1879, aunque consideraron que esta puede ser una especie separada de *E. ranarum* debido a su tamaño diferente y a los distintos hábitos de alimentación. También se han encontrado bacterias de tipo bacilar en el endoplasma de la mitad posterior del cuerpo, aparentemente simbióticas, como señala Fernández Galiano (1947) en *Cepedea dimidiata*.

El ciclo de vida de las opalinas está muy relacionado con el de su hospedador. McConnachie (1960) encontró dependencia con las secreciones hormonales de los anfibios durante la estación de reproducción que aumentan la producción de estados infectantes cuando hay mayor disponibilidad de nuevos hospedadores.

Ciclo biológico.

Los trofozoítos se encuentran en el anfibio durante todo el año. Se reproducen asexualmente por fisión binaria longitudinal (simetrogonia) en el recto del hospedador durante el verano y disminuye en otoño e invierno. Con el comienzo de la estación de reproducción del hospedador (primavera), las opalinas aceleran estas divisiones. Algunos autores (Zeller, 1877; Wessenberg, 1961) afirman que la división longitudinal alterna con la división transversal. La simetrogonia produce células delgadas (tomontes) de menos de 50 μm de longitud con pocos núcleos. Éstos se hacen un ovillo y se enquistan, dando lugar a quistes infectantes (con una célula, aunque pueden tener más) que son eliminados con las heces. Sobreviven por un tiempo limitado. Si los quistes son ingeridos por un renacuajo, se inicia el ciclo de vida sexual. Las opalinas se desenquistan y salen gamontes que son células activas con pocos núcleos. Los gamontes se dividen para producir células mononucleadas con núcleos grandes, donde se produce la meiosis dando origen a los gametos anisogámicos (Kaczanowski, 1971) y la conjugación entre los gametos (un microgameto pequeño se adhiere en su terminación posterior a un macrogameto). Una vez fusionados los gametos se enquistan y forman zigoquistes (Konsuloff, 1922). Éstos pueden ser eliminados para reinfectar a otros renacuajos o pueden ser retenidos por el hospedador. Cuando el renacuajo sufre la metamorfosis, el zigoquiste se desenquista y deja de producir gamontes pero en su lugar produce células que se alargan y multiplican sus núcleos. Éstos son trofozoítos que, incluso en *Opalina*, tienen sección transversal circular. Los protozoítos que se desarrollan en los renacuajos pueden quedar retenidos en el adulto o pueden enquistarse y liberarse como quistes de diseminación para extender la infección entre la población de anuros.

CLASIFICACIÓN DE LOS GÉNEROS

1. Metcalf (1923) incluye los géneros en dos subfamilias:

- Protoopalinae (binucleadas):
 - Sección transversal circular: *Protoopalina*.
 - Sección transversal aplanada: *Zelleriella*.
- Opalininae (multinucleadas):
 - Sección transversal circular: *Cepedea*.
 - Sección transversal aplanada: *Opalina*.

Metcalf (1921, 1923, 1929, 1940) llegó a la conclusión de que el género más ancestral era *Protoopalina* porque fue encontrado en todo el mundo; *Zelleriella* derivó de *Protoopalina* por aplastamiento del cuerpo; *Cepedea* surgió de *Protoopalina* por multiplicación de los núcleos; y *Opalina* se originó de *Cepedea* por aplastamiento del cuerpo.

2. Wessenberg (1978) añadía unas características adicionales para distinguir los géneros:

- El núcleo de los géneros binucleados es considerablemente más grande que el de los multinucleados.
- En *Protoopalina* los dos núcleos se localizan en el eje longitudinal de la célula, mientras que en *Zelleriella* en la mayoría de las especies los núcleos están más desplazados del eje.
- En *Protoopalina* y *Cepedea* la célula tiene forma espiral como se muestra en la parte anterior doblada y una parte posterior que a menudo se dobla en dirección opuesta. Las filas de cilios también muestran la espiralidad.
- En *Zelleriella* y *Opalina*, algunas especies tienen una cola puntiaguda o cauda, pero en otras especies el organismo es más corto y la terminación posterior es muy redondeada (por ejemplo, *O. ranarum*). Entre las especies redondeadas y caudas existen numerosas especies de formas intermedias.

3. En 1979, Earl dijo que nosotros no nos encontrábamos en posición de saber cuáles son los requerimientos para discriminar especies. Sin embargo, Sando (1976), revisando las características usadas en el reconocimiento de las especies de opalinidos, llegó a la conclusión de que la única definición satisfactoria de una especie es por una serie de dibujos de todas las formas de esa especie, sin tener en cuenta su frecuencia. Delvinquier (1983) cree que los dibujos pueden ser usados para comparar y definir especies.

4. Según Lynn y Small (1985), si las especies tienen:

- Núcleos relativamente grandes, normalmente dos (si tiene más, son pareados), cromosomas visibles y de:
 - Sección transversal circular o subcircular: *Protoopalina*.
 - Sección transversal aplanada: *Zelleriella*.
- Núcleos relativamente pequeños, normalmente más de 4 pero nunca pareados, cromatina nuclear reticulada y de:
 - Sección transversal circular o subcircular: género *Cepedea*.

• Sección transversal aplanada: género *Opalina*.

5. Delvinquier y Patterson (1993) indicaron que la forma de la sección circular no era una característica aconsejable para definir géneros puesto que existe una gradación entre la sección circular y la aplanada y una interconversion de formas durante el desarrollo. También afirman que no ha sido fácil asignar especies a estos géneros y que la mayoría de los autores en la práctica, en muchas ocasiones han ignorado los criterios que definen a estos géneros, describiendo así especies de *Opalina* alargadas y de *Cepedea* aplanadas. Por tanto, propusieron unos nuevos criterio para definir los géneros:
 - *Protozelleriella*: binucleada, con hoz marginal larga y delgada y casi paralela al eje anteroposterior de la célula. Su superficie celular no está completamente cubierta de kinetias.
 - *Zelleriella*: binucleada, con hoz marginal larga, delgada y casi paralela al eje anteroposterior de la célula. Su superficie celular completamente cubierta de kinetias.
 - *Protoopalina*: binucleada, con hoz axial, corta, ancha y casi paralela al eje anteroposterior de la célula.
 - *Opalina*: multinucleada, con hoz marginal larga, delgada y casi perpendicular al eje anteroposterior de la célula.
 - *Cepedea*: multinucleada, con hoz axial, corta, ancha y casi paralela al eje anteroposterior de la célula.
 - *Bezenbergeria* y *Hegneriella* quedan excluidas debido a su estatus incierto.

La teoría sobre la evolución de las especies también ha variado. Proponen que el género más ancestral es *Protozelleriella*, por ser el más simple de todos; *Zelleriella* derivó de *Protozelleriella* al completar su superficie de kinetias; *Protoopalina* surgió de *Zelleriella* por rotación de la hoz a una posición axial; por multiplicación de los núcleos de *Protoopalina* se formó *Cepedea*; y al volver la hoz a su posición marginal se originó *Opalina*.

Las opalinas que se encuentran en Europa son: *P. intestinalis*, *P. caudata*, *O. ranarum*, *O. obtrigona*, *C. dimidiata* y *C. minor*.

2.5.2.1.1. Género *Opalina* Purkinje y Valentin, 1835

Sinónimos: *Bursaria* Ehrenberg, 1832.

Purkinje y Valentin en 1835 crearon el género *Opalina* para la especie de Ehrenberg (1932) *Bursa ranarum* debido al color opalescente del organismo vivo. Posteriormente, en 1938, Ehrenberg incluyó un número de especies de ciliados y dos especies de opalinas en el género *Bursaria* (*B. ranarum* y *B. intestinalis*). Stein (1859) primero colocó *B. ranarum* en el género *Opalina* con varias especies de "*Opalina*" de hospedadores invertebrados y más tarde, en 1867, la trasladó al género *Anoplophrya* de los ciliados.

Zeller, 1877 dio una comprensiva serie de dibujos de las cinco especies conocidas en el Oeste de Europa: *O. ranrum*, *O. obtrigona*, *O. dimidiata*, *O. similis* y *O. caudata* (nueva especie). Según Delvinquier en un comunicado personal “la mejor, aunque la fuente más vieja para la identificación de las opalinas es Zeller (1877)”.

Metcalf (1923) afirma que aunque la forma del género *Opalina* es muy aplanada se pueden distinguir dos tipos de especies: las semejantes a obtrigona “obtrigona-like” (formas alargadas) y las semejantes a ranarum “ranarum-like” (redondeadas).

Purkinje y Valentin en 1835 crearon el subgénero *Opalina* (*Opalina*) y Amaro en 1966 añadió dos más: *Opalina* (*Nipponica*) y *O. (Angusta)*, con la especie tipo *O. (A.) obtrigona* Stein, 1864. Amaro consideró a *Opalina* (*Opalina*) Purkinje y Valentin, 1835 como subgénero tipo, con la especie tipo *O. (O.) ranarum* (Ehrenberg, 1831) Purkinje y Valentin, 1835.

Delvinquier y Patterson (1993) distinguen entre especies de opalina tipo “lata” (formas anchas) y especies tipo “angusta” (formas alargadas).

Se encuentra principalmente en las Regiones Neártica, Paleártica y Oriental, mientras que en las regiones Etiópica y Neotropical es más rara su presencia. No se ha encontrado en la Región Australiana.

Ha sido citado en Salamandridae, Bufonidae, Discoglossidae, Hylidae, Pelobatidae y Ranidae.

2.5.2.1.1.1. Especie *Opalina ranarum* (Ehrenberg, 1832) Purkinje y Valentin, 1835

Sinónimos: *Bursaria ranarum* Ehrenberg, 1832.

Hospedadores: *Alytes* sp., *Bombina bombina*, *B. variegata*, *Bufo bufo*, *B. calamita*, *B. variegata*, *B. viridis*, *Discoglossus pictus*, *Hyla arborea*, *H. meridionalis*, *Kaloula pulchra*, *Rana arvalis*, *R. cyanophlyctis*, *R. esculenta*, *R. limnocharis*, *R. dalmatina*, *R. perezii*, *R. temporaria*, *Rhacophorus nigropalmatus*, *R. leucomysta*, *Pelobates fuscus*, *Pterorana* sp., *Triturus alpestris*. En general, ha sido citada en Salamandridae, Bufonidae, Discoglossidae, Hylidae, Pelobatidae y Ranidae.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: Se encuentra principalmente en las Regiones Neártica, Paleártica y Oriental, mientras que en las regiones Etiópica y Neotropical es más raro. No se ha encontrado en la Región Australiana. En España sólo ha sido citada anteriormente por Carrera-Moro y col. (1987) en *H. meridionalis* y *R. perezii* de las Islas Canarias.

Originalmente fue descrita por Ehrenberg en 1832 como *Bursaria ranarum* en ranas de Berlín y Walton en 1964 la encontró en *Discoglossus pictus* en África del Norte aunque Metcalf (1923, 1940) no la incluyó en la lista (como ocurriera con todas las especies de la Región Paleártica), porque se piensa que Walton (1964) citó mal a Maupas (1879).

Metcalf (1923, 1940) y Liu (1958) crearon varias subespecies: *O. ranarum arvalis*, *O. r. cinctoidea*, *O. r. lata*, *O. r. latouchi*, *O. r. orbiculata*, *O. r. parvipalmatae*, *O. r. smithi* y *O. r. truncata* pero Walton (1964) dudaba sobre su validez. Alegó que debían ser especies polimorfas debido a los distintos hospedadores y regiones

zoogeomorfas. Earl en 1979 aplicó los mismos comentarios que Walton a las citas de Delphin y col (1972) de *O. ranarum* en algunos anuros. Propuso incluir la mayoría de las subespecies en el grupo de descripción inadecuada (Earl, 1973) y sugirió que desde que fue descrito por Ehrenberg en 1831* quizás sea necesaria una redescrípción como hizo Delvinquier (1988) con *Nyctotheroides cordiformis*.

*El dato correcto de la descripción de Ehrenberg de *O. ranarum* debe ser 1832 (Enero de 1832), la fecha de publicación en la revista y no 1831 (30 de Junio de 1831), como a menudo se menciona, que es cuando leyó en la Akademie der Wissenschaften (Delvinquier, 1991).

2.5.2.1.1.2. Especie *Opalina obtrigona* Stein, 1867

Hospedadores: *Hyla arborea*, *H. meridionalis* y *R. perezii*.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: Región Paleártica, Etiópica y Oriental. En España sólo ha sido citado anteriormente por Carrera-Moro y col. (1987) en *H. meridionalis* y *R. perezii* de las Islas Canarias.

Fue nombrado por Stein en 1867 y descrito en *Hyla arborea* de Europa. Metcalf (1909) dice que no pudo encontrar la descripción original de Stein. En 1877, Zeller se refirió a las especies de Stein (1867) "Der Organismus der Infusionsthier..." Abteilung II, page 10. Ésta parece ser la primera mención del organismo por Stein cuando él escribió "*Opal. obtrigona* St... im Darmcanal von *Hyla arborea*". Hay una pequeña descripción de las opalinas pero no hay dibujos. Según Delvinquier (1991), una cuidadosa revisión de las publicaciones de Stein entre 1859 y 1867 no pudo revelar nada relacionado con *O. obtrigona*. En la lista que dio Stein en 1859 contenía nueve especies en el género *Opalina* y cinco en *Bursaria* (que solía contener *Protoopalina intestinalis*) pero *O. obtrigona* no se encontraba en esa lista y por tanto, el dato 1867 es probablemente lo único correcto.

2.5.2.1.2. Género *Cepedea* Metcalf, 1920

Sinónimos: *Bursaria* Ehrenberg, 1832.

Metcalf en 1920 creó el subgénero *Cepedea* (*Cepedea*) y Amaro en 1966 añadió siete subgéneros más: *Cepedea* (*Paucimucleata*), *C. (Spinifera)*, *C. (Globoides)*, *C. (Pulchra)*, *C. (Phrynomantidis)*, *C. (Longa)* y *C. (Plata)*. Amaro consideró a *Cepedea* (*Cepedea*) Metcalf, 1920 subgénero tipo con la especie tipo *Cepedea* (*Cepedea*) *dimidiata* (Stein, 1860) Metcalf, 1923.

Se encuentra principalmente en la parte Norte de la Región Etiópica y en las Regiones Paleártica y Oriental, mientras que en las Región Neártica y Neotropical es más rara su presencia. No se ha encontrado en la Región Australiana.

Ha sido citado en Bufonidae, Discoglossidae, Hylidae, Leptodactylidae, Microhylidae, Pelobatidae, Ranidae y Rhacophoridae.

2.5.2.1.2.1. Especie *Cepedea dimidiata* (Stein, 1860) Metcalf, 1923

Hospedadores: *Alytes* sp., *Bombina bombina*, *B. variegata*, *Bufo bufo*, *B. calamita*, *B. viridis*, *Hyla meridionalis*, *Pelobates fuscus*, *Polypedates leucomystax*, *Rana catesbeiana*, *R. esculenta*, *R. ridibunda*, *R. temporaria* y *R. perezii*.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: Europa, Hawái y Vietnam. En España sólo ha sido citada en las Islas Canarias por Carrera-Moro y col. (1987) en *H. meridionalis* y *R. perezii*.

Según Dobell (1932), las opalinas que vio Leeuwenhoeck en 1683 en *Rana temporaria* eran *Cepedea dimidiata* aunque, esta especie fue descrita por primera vez en *Rana esculenta* de Europa por Stein en 1867.

En 1909, Metcalf mencionó que no había encontrado la descripción original de la especie de Stein y que existía mucha diversidad de tamaños en esta especie. Delvinquier y col. (1993) revisaron cuidadosamente las publicaciones de Stein y llegaron a la conclusión de que el primer uso del nombre "*dimidiata*" fue en Stein, 1860. Stein (1860, 1867) da una vaga descripción de la especie y Zeller (1877) fue el primero en ilustrarla.

Se han descrito numerosas "formas" y "subespecies". Metcalf (1923) se refirió a *O. zelleri* Metcalf, 1907, de *Rana esculenta*, como "la forma rechoncha" y escribió "*Cepedea dimidiata*, forma *zelleri*". Otras subespecies son: *C. dimidiata cottoniana* Mello, 1944 y *C. d. naglavensis* Uttangi, 1952 en *R. cyanophlyctis* de India; *C. d. hawaiiensis* Metcalf, 1923 en *R. catesbeiana* de Hawái, introducida de la región Neártica antes de 1867 (Oliver y Shaw, 1953 y Boisson, 1957); *C. d. orientalis* Metcalf, 1923 en *R. nigromaculata* de Japón, *C. d. paraguensis* Metcalf, 1923 en *Ololygon nasia* (Hylidae) de Paraguay y *C. d. saigonensis* Boisson, 1957 en *Polypedates leucomystax* (Rhacophoridae) del Vietnam. Es dudoso si todas estas subespecies son válidas, considerando que están distribuidas en regiones zoogeográficas muy diferentes. Earl en 1973 propuso incluir a la mayoría de estas subespecies en el grupo de descripción inadecuada.

Esta especie ha sido estudiada en el microscopio óptico por Fernández Galiano (1947) y en el electrónico por Noiro-Timothée (1967) y Wessenberg (1963).

2.5.3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE AMEBAS

Anthony van Leeuwenhoek nunca observó amebas. La primera descripción publicada fue en 1755 por Rosel von Rosenhof y el nombre del organismo fue "der kleine Proteus", una alusión al dios del mar de la mitología griega quien podía cambiar de forma. Pero los dibujos de Rosel son muy vagos como para determinar si se trataba de una verdadera ameba. Por otra parte, Linnaeus dio el nombre de "Chaos" (caos) a una ameba.

Leuckart (1862-1876) incluyó a las amebas dentro de la clase Rhizopoda, en el subreino Protozoa. Kent (1880-1882) definió la clase Rhizopoda como protozoos con pseudópodos lobulados o radiados y creó la clase Tentaculifera para los de apéndices tentaculados. Dividió a la clase Rhizopoda en: Pantostomata (área de ingestión difusa) y Discotomata (región discoidal pero sin constituir una boca), mientras que la clase Tentaculifera fue incluida en el grupo Polystomata (áreas ingestivas múltiples y distintas). También construyó un árbol evolutivo donde enfatizó la posición central de las amebas, del cual surgirían los otros grupos.

Bütschli (1880-1882) sustituyó el nombre de la clase por el de Sarcodina (filo Protozoa), pero Doflein (1901) siguió nombrando a la clase Rhizopoda (subfilo Plasmodroma). Wenyon (1926), Pearse y col. (1936) y Kudo (1966) retomaron la clase Sarcodina pero en el subfilo Plasmodroma.

En 1952, Grassé une las amebas y los flagelados en el subfilo Rhizoflagellata y eleva a superclase Rhizopoda. A las amebas que tenían axópodos las separó en un subfilo distinto, Actinopoda. Sin embargo, Corliss (1962) denominó al subfilo Rhizoflagellata como Mastigamoebaea.

Honigberg y col., (1964) renombran al subfilo, Sarcomastigophora (nombre propuesto anteriormente por Honigberg y Balamuth en 1964) reuniendo de nuevo a los actinópodos. Incluyen a las amebas en la superclase Sarcodina, donde también transfieren la clase Piroplasma procedente de Sporozoa. Los micetozoos de la literatura clásica son retenidos como una subclase separada (Mycetozoa), en la clase Rhizopodea, al igual que los labirintúlidos (subclase Labyrinthulia). Un número de ameboflagelados colocados convencionalmente entre los órdenes flagelados y los sarcodínidos son agrupados en el orden Rhizomastigida (clase Zoomastigophorea, superclase Mastigophora). Las amebas de los anfibios quedarían en esta sistemática incluidas en el subfilo Sarcomastigophora, superclase Mastigophora, clase:

- Rhizopodea, subclase Lobosia, orden Amoebida, familia Entamoebidae.
- Zoomastigophorea, orden Rhizomastigida: amebas tipo "limax".

Raabe (1964) crea el filo Sarcodina, con los subfilos: Actinopoda, Cnidosporidia y Rhizopoda (basada en una clasificación anterior del 1948 donde proponía el tipo Sarcodina, con los subtipos: Rhizopoda y Amoebosporidia). Sin embargo Levine (1973) sigue las propuestas del Comité en el subfilo Sarcomastigophora aunque, volvió a reunir los piroplásmidos con los esporozoos.

Singh (1975) basa la clasificación de las amebas en las estructuras nucleares, las formas de mitosis y su división. Divide al orden Amoebida (amebas desnudas) en dos familias, basándose en la persistencia o la desaparición de la membrana nuclear en el transcurso de la mitosis. La familia Schyzopyrenidae, comprende siete géneros, entre

ellos *Naegleria* y la familia Hartmannellidae, se divide en cuatro géneros, entre los que figura *Hartmannella*. Singh no acepta la validez ni del género *Vahlkampfia* ni del género *Acanthamoeba*, e incluye sus especies en los géneros *Tetramitus* y *Hartmannella* respectivamente. Sin embargo, la clasificación de Page (1967 y 1976) se basa fundamentalmente en características morfológicas, movilidad, estructuras nucleares y mitosis. Opina que la interrelación de las familias dentro del orden Amoebida, no está todavía clara. El orden es probablemente polifilético, comprendiendo dos o tres líneas principales, pero hay indicaciones de afinidad al menos entre Amoebidae y algunos Thecamoebidae. Una investigación sobre miembros monopodiales de la familia Amoebidae (por ejemplo, *Trichamoeba*) muestra una conexión entre las familias Hartmannellidae y Amoebidae, puesto que las formas polipodiales de la mayoría de los Amoebidae se derivan de la forma limax, según las corrientes ideas sobre movimientos ameboides.

En la sistemática de Levine y col., (1980) Sarcomastigophora es elevado a filo y Sarcodina a subfilo. Las principales novedades fueron:

- Desaparece la subclase Labyrinthulia y se crea el filo Labyrinthomorpha.
- Se distribuyen los radiolarios entre la clase Polycistinea y Phaeodarea.
- Los miembros de la clase Mycetozoa se dividen en cuatro clases.
- La exclusión de los labirintúlidos y piroplásmidos dejan al subfilo Sarcodina dividido en dos grandes grupos con categoría de superclase: Actinopodea (con axópodos) y Rhizopodea (con otro tipo de pseudópodos).
- En la superclase Rhizopoda se conservan los grupos (aquí clases) Lobosea, Filosea y Granuloreticulosea.

En esta clasificación las amebas de los anfibios quedarían incluidas en el filo Sarcomastigophora, subfilo Sarcodina, superclase Rhizopoda, clase Lobosea, subclase Gymnamoebia:

- Orden Amoebida,
 - Suborden Tubulina, familias: Entamoebidae y Hartmannellidae.
 - Suborden Acanthopodina, familia Acanthamoebidae.
- Orden Schizopyrenida, familia Vahlkampfiidae.

Margulis y col., (1990) incluye en los ameboflagelados todos los géneros de la familia Vahlkampfiidae excepto *Vahlkampfia* y los traslada a la clase Amebomastigota (filo Zoomastigina). Consideran que las amebas se han originado de los ameboflagelados por pérdida de los flagelos. En esta sistemática, las amebas de los anfibios quedarían incluidas en:

- Filo Rhizopoda, clase Lobosea, subclase Gymnamoebia, orden Amoebida:
 - Suborden Tubulina, familias: Entamoebidae, Hartmannellidae y Vahlkampfiidae.
 - Suborden Acanthopodina, familia Acanthamoebidae.
- Filo Zoomastigina, clase Amebomastigota, género *Naegleria*.

Cox (1993) separa las amebas de los flagelados y crea el filo Rhizopoda. En la clasificación de Slein (1989) los ameboflagelados fueron colocados en la clase rizópoda Heterolobosea (con dos órdenes: Schizopyrenida y Acrasida), pero Cox las consideró *incertae sedis* dentro de los flagelados (Grupo 1) y no se atrevió a crear un filo. Los géneros *Dientamoeba* e *Histomonas* antes considerados como ameba, los incluye en los flagelados. El género *Acanthamoeba* y datos de biología molecular sugieren que no

están todos relacionados en Euamoebida y por tanto, no constituyen un grupo natural. En la clasificación de Sleight (1989), Acanthopodida (con *Acanthamoeba*) y Euamoebida están contenidas en la misma clase, Lobosea. En esta clasificación, son separados y Acanthopodida es considerada *incertae sedis*, dentro de las amebas.

Según esta clasificación, las amebas de anfibios quedarían incluidas en el Reino Protista:

- Grupo 1(flagelados).
 - *Incertainae sedis*. Clase Heterolobosea, orden Schizopyrenida (género *Naegleria*)
- Grupo 2 (amebas), filo Rhizopoda, clase Lobosea:
 - Orden Euamoebida, familias: Entamoebidae, Hartmannellidae y Vahlkampfiidae.
 - *Incertainae sedis*. Orden Acanthopodida, familia Acanthamoebidae.

En la taxonomía de Cavalier-Smith (1993) el filo Rhizopoda es mucho más amplio y homogéneo que el filo Rhizopoda sensu Page, 1987. Comparado con este filo se han excluido seis clases: Granuloreticulosea (colocado en el filo Reticulosa), Heterolobosea (en el filo Percolozoa), Mycetozoa (en un filo separado), Pelobiontida (en el reino Archezoa), Plasmodiophorida (en el filo Opalozoa) y Xenophyophorea (tratado como un Neosarcodina *incertainae sedis*). También excluye las Entamoebidae (separadas en un nuevo filo Entamoebia). Por lo tanto, el filo, se reduce a dos de sus clases: Lobosea y Filosea que es muy parecido a Rhizopoda sensu Schuster, 1990 pero difiere de éste, en que no incluye a las familias Entamoebidae y Vahlkampfiidae, ni al hongo *Pneumocystis*.

Entamoebia no tiene ninguna relación con Rhizopoda, pues no posee cilios, mitocondrias, peroxisomas ni hidrogenosomas y sugiere que pueden haber evolucionado de Mycetozoa no ciliada, por la pérdida de mitocondrias y peroxisomas.

El filo Percolozoa recuerda a los arquezoos por la falta de dictiosomas del aparato de Golgi, pero parece ser que esta pérdida ha sido secundaria, porque presentan mitocondrias o hidrogenosomas y por eso se mantienen entre los protozoos, aunque se deben realizar más estudios.

En esta clasificación las amebas de los anfibios se incluirían en el Imperio Eukaryota, superreino Archezoa, reino Protozoa:

- * Subreino Adictyozoa, filo Percolozoa, subfilo Tetramitia, superclase Striatorhiza, clase Heterolobosea, orden Schizopyrenida, familia Vahlkampfiidae (también con el género *Naegleria*).
- * Subreino Dictyozoa, rama Bikonta, infrareino Neozoa:
 - Parvirreino Neosarcodina, filo Rhizopoda, clase Lobosea, subclase Gymnamoebia:
 - Orden Euamoebida, familia Hartmannellidae.
 - Orden Acanthopodia, familia Acanthamoebidae.
 - Parvirreino Entamoebia, filo Entamoebia, clase Entamoebia, orden Entamoebida, familia Entamoebidae.

Características generales.

Son organismos unicelulares, la mayoría son uninucleados, pero existen algunos multinucleados.

Poseen una membrana exterior comparativamente delgada y, por tanto, son capaces de formar pseudópodos. Los pseudópodos sirven para la locomoción y la captura de alimento. El cuerpo se presenta desnudo o encerrado dentro de una cubierta

superficial con aberturas a través de las cuales salen los pseudópodos. Los flagelos, cuando los presentan, normalmente están restringidos al desarrollo o a estados temporales.

El citoplasma está diferenciado generalmente en ectoplasma y en endoplasma, sin embargo esta diferencia no siempre es constante. El ectoplasma, llamado hialoplasma, es claro y sin orgánulos celulares, mientras que el endoplasma es granular y contiene los orgánulos típicos de otros protistas, aunque en un estado menos organizado. Poseen mitocondrias, excepto en el género *Entamoeba*, y pueden estar asociadas con el retículo endoplásmico. El retículo endoplásmico liso está presente como vesículas discretas o puede formar parte del aparato de Golgi. Tienen vacuolas digestivas con bacterias en número variable y vacuolas contráctiles en las especies de agua dulce, pero se encuentran ausentes en las formas parásitas y marinas. Se han visto varios filamentos citoplásmicos que pueden jugar un papel en la contractilidad citoplasmática.

La reproducción asexual se verifica generalmente por fisión binaria. La reproducción sexual ha sido observada en un número muy pequeño de especies y está asociada con la forma flagelar, o más raramente, con gametos ameboides. También, la literatura antigua contiene ilustraciones de conjugación en amebas con cubierta superficial.

Son de distribución cosmopolitas, tanto en hábitat acuáticos (de agua dulce o salada) como terrestres y en asociación parásita con otros organismos por ejemplo, simbioses de algas y bacterias. Algunas formas de vida libre son parásitas oportunistas.

Para las amebas parásitas Page (1974) creó el concepto de “amebas anfitriónicas”, es decir que son capaces de alimentarse y de multiplicarse en condiciones endozoicas o exozoicas. La palabra endozoico se aplica a las amebas que tienen su ciclo vegetativo entero en el interior de los seres vivos y solamente se hallan en el exterior bajo la forma quística. De esta forma, definiremos a las exozoicas como amebas de vida libre. También añade que la mayoría de las amebas comprendidas en este grupo son preferentemente de vida libre (exozoicas) y sólo pasan ocasionalmente al interior de seres vivos, por lo que se les podría denominar “amebas endozoicas facultativas”.

Según Page (1985) las amebas descritas con el término “limax” son clasificadas en la clase Heterolobosea particularmente en las familias Vahlkampfiidae y Hartmannellidae. Si las formas son un poco más grandes se incluyen en la familia Entamoebidae. Define amebas limax y las delimita describiéndolas como un grupo que comprende las amebas cuya forma locomotriz es monopódica, cilíndrica o subcilíndrica y en la cual la zona hialina anterior, si existe, no está más aplanada que la masa granular posterior, es decir, posee un extremo anterior más o menos hemisférico. Pero, para la mayoría de los autores, pertenecen también al tipo limax, aquellas amebas cuyo amplio pseudópodo anterior es más o menos aplanado, con lo que queda incluido el género *Acanthamoeba*.

Entre las amebas limax se encuentra el grupo de los ameboflagelados, que comprende seis géneros: *Adelphamoeba*, *Heteroamoeba*, *Naegleria*, *Paratetramitus*, *Protonaegleria* y *Tetramitus*. Sus organismos son unicelulares, uninucleados, heterotróficos, monopodiales y promitóticos durante su ciclo de vida. Se mueven con protuberancias eruptivas, hialinas y hemisféricas. Se caracterizan por su transformación reversible de forma ameboide a forma amastigote con flagelos y kinetos asociados a

microtúbulos. El estado ameboide no tiene ningún trazo de estructuras mótils basadas en microtúbulos y son consideradas amebas limax. El ciclo sexual está ausente. Muchos organismos están mal clasificados tanto como amebas o como flagelados, según hayan sido observados.

Según Madrigal-Sesma y col. (1987, 1988) la epidemiología de las infecciones amebianas por amebas de vida libre está relacionada con un contacto previo con aguas contaminadas. Se ha detectado la presencia de amebas de vida libre en animales tanto de sangre caliente como fría, destacando entre los primeros el trabajo de Simitzis-Le Flohic y Chastel (1982), pues estos autores avalan la hipótesis de Martínez y col. (1979) de que ciertos animales pueden actuar como vectores de las amebas. Los trabajos que citan hallazgos de estas amebas en animales de sangre fría son también numerosos, destacando los de Lobeck (1940), Wilson y col., (1967), Ciurea-Van Saanen (1980) y Franke y Mackiewicz (1982). En opinión de Frank (1974), la vida saprofítica de las amebas de vida libre va derivando a un modo comensal-parásito, muy evidente en ciertas especies de *Vahlkampfia*, *Hartmannella* y *Acanthamoeba*, algunas de cuyas especies han sido descritas también en moluscos de agua dulce (Richards, 1968). Por otra parte pueden hallarse, al menos en animales de sangre fría, amebas no formadoras de quiste, cuyos trofozoítos se encuentran a lo largo del tracto digestivo y resisten, no sólo la acción de los jugos, sino también la anaerobiosis del medio intestinal. Ésto justifica el pensar que las amebas de vida libre no se hallen en situación de tránsito sino de una verdadera colonización. De cualquier forma, la patogenicidad de estas amebas en los animales de sangre fría no parece ser importante.

Las características taxonómicas en las que se han basado gran número de autores para diferenciar las diversas especies son: forma del pseudópodo, características del movimiento ameboideo, existencia de estados flagelados en el ciclo de la ameba, estructura nuclear, morfología de los quistes y forma del desenquistamiento. En ocasiones el uso de tales características ha sido criticado, por ejemplo por Pussard (1966) y Stratford y Griffiths (1978) porque las descripciones de los pseudópodos son a veces imprecisas y la morfología de los quistes puede ser extremadamente variable o modificada significativamente por las condiciones del medio ambiente. Culbertson y Harper proponen un nuevo método inmunológico para la identificación de las amebas, que es una modificación de la reacción indirecta de coagulación de la proteína A de *Staphylococcus* (ISPAC). Frank realizó un estudio, el SLCA, basándose en los caracteres morfológicos y la conducta de las amebas revelando la estrecha relación entre todas las cepas de amebas de vida libre aisladas de reptiles y anfibios y la gran distancia con *Entamoeba invadens*.

2.5.3.1. FAMILIA ENTAMOEBIDAE CHATTON, 1925

Incluye seis géneros: *Cytamoeba* Labbé, 1894, *Endolimax* Kuenen y Swellengrebel, 1913, *Entamoeba* Cassigrandi y Barbagallo, 1895, *Iodamoeba* Dobell, 1919, *Janickina* Chatton, 1953 y *Pansporella* Chatton, 1925.

Los organismos de esta familia rara vez son polipodiales. Los pseudópodos son semejantes a protuberancias con un extremo claro anterior y a veces de producciones semieruptivas. Cuando presentan endosoma nuclear, su tamaño es menor de la mitad del diámetro del núcleo. No poseen mitocondrias sino un sistema de endomembranas sencillo, ni tampoco estados flagelados pero sí forman quistes. Son parásitos o comensales del sistema digestivo de artrópodos y vertebrados.

2.5.3.1.1. Género *Entamoeba* Cassigrandi y Barbagallo, 1895

Sinónimo: *Endamoeba* Leidy, 1879.

Especie tipo: *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903.

Todas las especies son parásitas, excepto *E. moshkovskii* Tshalaia, 1941 que es una ameba de vida libre.

Los quistes son originariamente uninucleados pero experimentan divisiones nucleares y llegan a contener 4 u 8 núcleos. El ciclo biológico es directo.

E. invadens es el agente causal de la amebosis en reptiles y *Entamoeba histolytica*, la disentería amebiana en el hombre.

Geiman y Ratcliffe (1936) describieron el ciclo biológico de *E. invadens* Rodhain, 1934. Los trofozoítos (forma típica amebiana del parásito) se enquistan en el lumen intestinal, aunque a menudo invaden la sangre y alcanzan el hígado vía circulación portal u otros órganos por contigüidad anatómica. El quiste (estado transitorio) es eliminado con las heces y pueden sobrevivir varios días fuera del cuerpo. Cuando son ingeridos por un nuevo hospedador susceptible, pasan al intestino delgado y se desenquistan, dando lugar a amebas con cuatro núcleos (cada quiste produce un trofozoíto). Luego se divide el núcleo y después el citoplasma, formándose 8 amebas uninucleadas pequeñas, que pasan al colon, maduran y alcanzan la talla completa. Los trofozoítos se multiplican por escisión binaria o se enquistan, volviendo así al comienzo del ciclo.

2.5.3.1.1. Especie *Entamoeba ranarum* Grassi, 1879

Sinónimo: *E. pyrrhogaster* Lobeck, 1940.

Hospedador: *Ambystoma maculatum*, *A. tigrinum*, *Hyla arenicola*, *Rana catesbeiana*, *R. clamitans*, *Triturus pyrrhogaster*, *T. torosus*, *T. viridescens*. Las amebas vistas por Chatton (1910) en el recto de *Triton palmatus* y por Alexeieff (1912) en *Triton toeniatus*, es muy posible que fuera *E. ranarum* (Wenyon, 1926).

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: Cosmopolita. No ha sido citada anteriormente en la Península Ibérica.

Dobell (1918) muestra el parecido de *E. ranarum* con *E. histolytica* tanto de los estados libres como de los enquistados. Tan similar era esta forma que intentó infectar renacuajos, haciéndoles ingerir quistes de *E. histolytica*. Éstos no eclosionaban en el intestino de los renacuajos sino que pasaban inalterados a las heces, lo que significa que *E. histolytica* no puede infectarlos. Además, *E. ranarum* y *E. histolytica* tienen distinta temperatura de supervivencia. También esta especie fue estudiada en renacuajos por Collin (1913), quien encontró amebas libres que a veces presentaban treinta núcleos y lo consideró como esquizontes.

Mercier y Mathis (1918) describieron dos tipos de quistes: la forma normal tenía cuatro núcleos (como los quistes de *E. histolytica*) y la otra forma tenía alrededor de dieciséis núcleos.

En 1922, Ilowaisky descubrió abscesos amebicos espontáneos en el hígado de ranas y afirmó que éstas eran parecidas a *E. ranarum*, las cuales se encontraban en el intestino del mismo animal.

Según Mackinnon y Hawes (1961) existen formas histolíticas parasitando opalínidos en el recto de anfibios del Viejo y Nuevo Mundo y también se encontraban en el recto de esos anfibios *E. ranarum* y, por tanto, parece muy posible que las amebas de los opalínidos sean o *E. ranarum* o un variedad suya que se pudiera distinguir por medio de alguna característica biológica indeterminada.

2.5.3.2. FAMILIA HARTMANNELLIDAE (VOLKONSKY, 1931) PAGE, 1974

Esta familia incluye a todas las verdaderas "amebas limax" con un núcleo vesicular, como son los géneros: *Glaeseria* Volkonsky, 1931, *Hartmannella* (Alexeieff, 1912) Page, 1974 y *Saccamoeba* (Frenzel, 1897) Bovee, 1972.

La heterogeneidad de la familia (originalmente subfamilia Hartmannellinae Volkonsky, 1931) fue eliminada por la redefinición propuesta por Page (1974) y después de remover el género *Rhizamoeba* (Page, 1980). Esto ha sido confirmado por el descubrimiento de elementos semejantes a ventosas de todas las amebas asignadas a esta familia.

La locomoción de todos sus miembros es por un flujo generalmente constante, algunas veces con ligeras protuberancias hemisféricas desde los laterales hacia el extremo anterior. La división nuclear es mesomitótica. No presenta estados flagelados pero sí estados quísticos.

2.5.3.2.1. Género *Hartmannella* (Alexeieff, 1912) Page, 1974

A este género se le han atribuido más de 30 especies, pero la mayor parte de tales asignaciones no tienen sentido, debido a la imprecisión de las diagnósticas genéricas anteriores. Sin embargo, otras especies podrían incluirse si fueran reexaminadas. Muchas de las especies que inicialmente se incluyeron en el género, hoy día se han transferido a los géneros *Acanthamoeba*, *Casbia*, *Echinamoeba* y *Saccamoeba*.

Son todas amebas de vida libre, pero la especie *Hartmannella vermiformis* se ha considerado potencialmente patógena para el hombre.

No se da división nuclear en el quiste, si es que la especie los forma.

Hartmannella sp. ha sido citada en España por:

- Madrigal-Sesma y col. (1988) en *Tarentola delalandii* y *Chalcides viridanus viridanus*.
- Basista Díaz y col. (1982) en el agua de Jaén, Valencia y Granada.

2.5.3.2.1.1. Especie *Hartmannella vermiformis* Page, 1967

Hospedador: *Chalcides viridanus viridanus* y *Rana perezi*.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: Australia, Europa, India y América del Norte.

Esta especie ha sido citada anteriormente en España por:

- Batista Díaz y col., (1982) en el agua de Jaén, Valencia y Granada.
- Madrigal-Sesma y col. (1987) en *Rana perezi* de las Islas Canarias.
- Madrigal-Sesma y col. (1988) en *Chalcides viridanus viridanus*.

H. vermiformis Page, 1967 es la especie más citada. Fue descrita por Page en 1967 de dos sitios muy separados de USA. También se ha encontrado en fuentes terrestres y de agua dulce en Checoslovaquia (Cerva, 1971), Suecia (Cervan y Huldt, 1974), Inglaterra (Page, 1976), Francia (Molet y col., 1976; Derr-Harf y col., 1978; Grillot y Ambroise-Thomas, 1981), USA (O'Dell, 1979), India (Singh y Hanumajiah, 1979) y Australia (Robinson, comunicación personal) Cervan y col., (1973). Ha aparecido en la mucosa nasal humana, en los bronquios de un perro y en la tráquea e intestino de algunos pavos (Kadlec, 1975, 1978).

Los tests de patogenicidad de aislados endozoicos fueron negativos (Kadlec, 1978), al igual que los test de aislados de agua dulce realizados por Cerva (1971) y Grillot y Ambroise-Thomas (1981).

Presenta una especie de ventosa de superficie piramidal y las formas quísticas, una pared con apariencia fibrosa muy fina. No contienen bacterias endocíticas.

2.5.3.3. FAMILIA ACANTHAMOEBIIDAE SAWYER Y GRIFFIN, 1975

Según John (1993) a esta familia pertenecen tres géneros: *Acanthamoeba* Volkonsky, 1931, *Comandonia* Pernin y Pussard, 1979 y *Protacanthamoeba* Page, 1981. El único género patógeno es *Acanthamoeba*.

Los miembros de esta familia poseen una zona hialina en la que se producen proyecciones finas (cuya cantidad puede variar considerablemente), con forma de huso, flexibles y algunas veces bifurcadas denominadas acantópodos, los cuales pueden aparecer redondeados o terminados en punta. Los quistes tienen una intina poligonal o estrellada y una exina ondulada o rugosa. El desenquistamiento es por separación de un opérculo.

2.5.3.3.1. Género *Acanthamoeba* Volkonsky, 1931

Page en la clasificación de 1967 se mostraba reticente en cuanto a la inclusión de *Acanthamoeba* en la familia Hartmannellidae, pero pensaba que este género debía quedarse de momento en dicha familia hasta que se obtuvieran una mayor información. En 1974, afirma taxativamente que *Acanthamoeba* no tiene que incluirse en dicha familia. Sin embargo, Shing (1975) no considera al género *Acanthamoeba* e incluye a sus organismos en *Hartmannella*.

Pussard y Pons (1977) diferenciaron 18 especies de *Acanthamoeba*, atendiendo a las características de los quistes.

Los quistes son poliédricos o marcadamente biconvexos, con una pared que contiene celulosa, que comprende el ectoquiste más o menos estrellado o poligonal y el endoquiste más o menos curvado. El exquistamiento tiene lugar por la apertura del opérculo en el punto de contacto entre el endo y el ectoquiste. Es anfizoico: puede vivir como un organismo de vida libre o como un endoparásito.

El género *Acanthamoeba* se considera potencialmente patógeno y puede producir una infección crónica en el sistema nervioso central humano llamado encefalitis granulomatosa amebiana (Kenney, 1971), o infecciones en el ojo llamadas queratitis por *Acanthamoeba* (Nagington y col., 1974).

Acanthamoeba sp. (*polyphaga-quina-lugdunensis* complex) ha sido citada anteriormente en España por:

- Basista Díaz y col. (1982) en el agua de Jaén, Valencia y Granada.
- Madrigal-Sesma y col. (1987) en *Rana perezi* de las Islas Canarias.
- Madrigal-Sesma y col. (1988) en *Gallotia galloti galloti*, *Tarentola delalandii* y *Chalcides viridanus viridanus* (existen cepas neumotrópicas y cepas neurotrópicas). También citaron:
 - *A. triangularis* en *Gallotia galloti galloti* y *Tarentola delalandii*.
 - *A. lenticulata* en *Tarentola delalandii*.

2.5.3.4. FAMILIA VAHLKAMPFIIDAE JOLLOS, 1917

Según John (1993) a esta familia pertenecen trece géneros: *Adelphamoeba* Napolitano, Wall y Ganz, 1970, *Didascalus* Sigh, 1952, *Heteramoeba* Droop, 1962, *Naegleria* (Alexeieff, 1912) Calkins, 1913, *Paratetramitus* Darbyshire, Page y Goodfellow, 1976, *Protonaegleria* Michel y Raether, 1985, *Pseudovahlkampfia* Sawyer, 1980, *Singhamoeba* Sawyer, Nerad y Munson, 1992, *Tetramastigamoeba* Singh y Hanumaiah, 1977, *Tetramitus* Perty, 1852, *Trimastigamoeba* Whitmore, 1911, *Vahlkampfia* (Chatton y Lalung-Bonnaire, 1912) Page, 1967 y *Willaertia* De Jonckheere, Dive, Pussard y Vickerman, 1984. Pero según algunos autores, los ameboflagelados se han excluido de esta familia.

Para la mayoría de los autores los miembros de esta familia son ameboflagelados o amebas limax. La locomoción es por la sucesión de una serie de olas más o menos discretas, eruptivas, hialinas y hemisféricas, que, con frecuencia, se producen alternativamente a los lados del extremo anterior. El hialoplasma a veces es recurrente por ambos lados. Existen estados flagelados en la mayoría de los géneros. La división nuclear es promitótica. Presentan estados quísticos. Son de vida libre, pero *Naegleria* puede ser patógeno para mamíferos.

2.5.3.4.1. Género *Vahlkampfia* Chatton y Lalung-Bonnaire, 1912

La existencia de amebas en el intestino de anfibios ya fue señalada en 1940 por Lobeck quien, además, describió dos especies de *Vahlkampfia*, *V. ranarum* y *V. salamandrae*, que son exclusivas de anfibios.

Para Singh (1975) el género *Vahlkampfia* no existe e incluye a sus especies en el género *Tetramitus*.

Los organismos de este género son todos amebas limax, forman quistes y no presentan estado flagelar.

Especies de *Vahlkampfia* han sido citadas anteriormente en España por:

- Madrigal-Sesma y col. (1987) en *Rana perezi* de las Islas Canarias: *V. avara* Page, 1967 y *V. enterica* Page, 1974.
- Madrigal-Sesma y col. (1988) en *Chalcides viridamus viridamus*: *V. enterica* y *Vahlkampfia* spp.

2.5.3.4.2. Género *Naegleria* (Alexeieff, 1912) Calkins, 1913

Noble y Noble (1976) incluyen los ameboflagelados en la familia Dimastigamoeba entre los que se encuentran una diversa colección de parásitos humanos. Algunos autores los consideran amebas (Grell, 1973; Page, 1976; Levine y col., 1980; Cavalier-Smith, 1993; John, 1993) y los incluyen en la familia Valhkampfiidae. Otro grupo de ellos los consideran Zoomastigina (Honigberg y col., 1964; Margulis y Schwartz, 1988) y Cox (1993) los considera *incertae sedis* dentro del grupo de los flagelados.

Son ameboflagelados que se mueven por protuberancias más o menos eruptivas, hialinas y hemisféricas. Tiene un estado flagelar temporal (normalmente con dos flagelos de igual longitud) que suele pronto revertir espontáneamente a la forma de ameba. No tiene citostoma y el núcleo se encuentra en la región anterior. Los quistes tienen una pared punteada de orificios (poros), obturados por una sustancia mucosa (tapón). Hay que destacar la variabilidad del aspecto de los tapones y poros dentro del mismo clon e incluso de un mismo quiste.

El género *Naegleria* se consideraba como no patógeno, pero se ha demostrado que *N. fowleri* Carter, 1970 produce meningoencefalitis amebiana primaria en humanos, principalmente entre jóvenes que se han bañado recientemente en piscinas o charcas infectadas de *N. fowleri* (Fowler y Carter, 1965).

El ciclo de vida de *N. gruberi* ha sido estudiado extensamente. Las amebas son el estado activo de alimentación y división. La mitosis puede ser completada en tan solo 15 ó 20 minutos. Bajo ciertas condiciones, como la alta temperatura y la desecación, las amebas forman quistes altamente resistentes, con doble pared y tres o más poros taponados. Las amebas se desenquistan por disolución de los tapones. En medios pobres en nutrientes se transforman en biflagelados, sintetizando kinetos, flagelos y estructuras microtubulares en menos de una hora. Los flagelados en medios ricos en nutrientes revierten a amebas por dediferenciación kinética; pierden su forma fija y reabsorben sus flagelos (Grell, 1967; Fulton, 1977, 1983). Se ha comprobado que el número de flagelos puede ser alterado por la temperatura del cultivo y otras condiciones.

Naegleria sp. ha sido citada anteriormente en España por:

- Madrigal-Sesma y col. (1987) en *Rana perezi* de las Islas Canarias.
- Madrigal-Sesma y col. (1988) encontraron *N. gruberi* Schardinger, 1899 en *Tarentola delalandii* (es neumotrópica).

2.5.4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE ESPOROZOOS

En 1674 Leeuwenhoeck vio el primer protozoo parásito, el ooquiste de *Eimeria stiedae* en la bilis de un conejo, pero hasta 150 años después no fue descrito por Hake (1839), quien pensó que los ooquistes eran gránulos de pus asociados con carcinoma del hígado.

Cavolini (1787) fue el primero, que de forma accidental, vio, describió e ilustró un esporozoo (la gregarina *Cephaloidophorus conformis* del estómago de un cangrejo), encontrando gamontes en sicigia y pensando que cada par era un gusano con dos segmentos (Diesing, 1851). Aunque, realmente fue Léon Dufour quien descubrió el grupo en sentido científico. En un primer momento, Dufour estaba interesado en la anatomía de insectos, pero al estudiarlos encontró gregarinas y describió algunas especies. En 1828, les dio el nombre genérico de *Gregarinia* y pensó que eran un grupo peculiar de gusanos relacionados con los trematodos.

En 1845 y 1848, Von Kolliker describió algunas especies de esporozoos y dijo por primera vez que las gregarinas eran unicelulares y por lo tanto protozoos. Sin embargo, Henle, Bruch y Leydig seguían manteniendo que las gregarinas estaban, de alguna forma, conectadas con el estado embriológico de nematodos y más especialmente con *Filaria* (Minchin, 1903).

La clase Sporozoa fue establecida por Leuckart en 1879 dentro del subreino Protozoa y en ella sólo incluyó a las gregarinas y a los coccidios. Lo que parece haber sido *Sarcocystis* fue agrupado de forma separada como "Psorospermien". Después, dividió Psorospermien en: "Psorospermienchlauche" (tubular) y "eiformige Psorospermien" (con forma de huevo), incluyendo posiblemente a *Sarcocystis* y *Eimeria*, respectivamente.

Balbani (1882) reconoció cinco órdenes en Sporozoa: Gregarines, Coccidia, Sarcosporidia, Myxosporidia y Microsporidia. Bütschli (1882) incluyó las subclases Gregarinida, Myxosporidia y Sarcosporidia en la clase Sporozoa, colocó a los coccidios como una familia bajo el orden gregarinado Monocystidea y a Microsporidia en un apéndice de los Sarcosporidia. Pero, Lankester (1885) aceptó la clase Sporozoa de Leuckart, dividiéndola en cuatro subclases: Coccidiidea, Gregarinidea, Myxosporidia y Sarcocystidia. La subclase Coccidiidea contenía tres órdenes: Monosporea (quistes formados por una simple espora) con *Eimeria* como único género, Oligosporea (quistes con un pequeño número de esporas) con *Coccidium* como único género y Polysporea (quistes con un gran número de esporas, más de seis) con los géneros *Klossia* y *Drepanidium*.

En 1899, Labbé hizo una gran revisión de los esporozoos. Separó Sporozoa en dos legiones: Cytosporidia (conteniendo los coccidios) y Myxosporidia, y colocó Sarcosporidia en los Sporozoa *incertae sedis*. Dividió Cytosporidia en cuatro órdenes: Coccidiida, Gregarinida, Gymnosporidiida y Haemosporidiida (con el género *Lankesterella* entre otros). Definió el orden Coccidiida como citosporidios esféricos u ovoides, nunca con estados adultos libres o móviles, ni fases ameboides ni flageladas y siempre formaban quistes esporulados en los epitelios del hospedador. Dividió el orden en dos subórdenes: Polyplastina y Oligoplastina. Polyplastina contiene dos tribus: Polyplastina digénica (los esporozoitos se formaban dentro de esporas) y Polyplastina

monogénica (los esporozoítos se formaban directamente de esporoblastos) en el que estaba incluido el género *Eimeria*. El suborden Oligoplastina contiene tres tribus basadas en el número de esporas del ooquiste: Disporea (2 esporas), Trisporea (3 esporas) y Tetrasporea (4 esporas) en el que se incluía el género *Coccidium*. No usó familias.

Léger (1900) pensó que los coccidios debían ser divididos primero en base al número de esporozoítos por ooquiste más que por el número de esporas. Estableció, entre otras, la familia Asporocystidae (con el género *Eimeria*) sin esporoquistes y Tetransporocystidae (*Coccidium*) con cuatro esporoquistes por ooquiste con dos esporozoítos cada uno. Sin embargo, Schaudinn (1900) dividió la clase Sporozoa en dos subclases: Telosporidia (con esporas al final del ciclo de vida) incluyendo a las gregarinas, hemogregarinas y coccidios, y Neosporidia (las esporas se producen a lo largo de su ciclo de vida) con Actinomyxidia, Haplosporidia, Microsporidia, Myxosporidia y Sarcosporidia. Doflein (1901) estableció la subclase Cnidosporidia para los tres primeros grupos de neosporidios porque tenían filamentos polares y Hartmann (1923) estableció eventualmente la subclase Acnidosporidia para los dos últimos grupos de neosporidios.

Minchin (1903) dijo que, según el código de nomenclatura, la familia Asporocystidae debía ser nombrada Eimeridae (o Legerellidae) y Tetransporocystidae debía ser Coccidiidae (o Eimeridae). Más tarde, Poche (1913) enmendó el nombre Eimeridae por el de Eimeriidae que es, hoy en día, el nombre aceptado de la familia. También dijo que el nombre genérico de *Eimeria* databa de 1875 y *Coccidium* de 1879 y por lo tanto el primero era el nombre válido, mientras que el segundo ha desaparecido de la literatura y es sólo conmemorativo del nombre común del grupo.

En 1926, Wenyon aumentó la división a subclases. Elevó Cnidosporidia al rango de clase y relegó los otros dos órdenes colocados por Doflein en la subclase Neosporidia (Sarcosporidia y Haplosporidia) a "parásitos de posición indeterminada". Esto dejó sólo una clase dentro de los Sporozoa, Telosporidia y por tanto, elevó los órdenes Coccidiomorpha y Gregarinida, al rango de subclase (modificando el nombre de la última a Gregarinina). Dividió los Coccidiomorpha en los dos órdenes: Cociida (con los subórdenes Eimeriidea, Haemosporidiidea y Piroplasmidea) y Adeleida (con los subórdenes Adeleidea y Haemogregariniidea).

Grassé (1953) consideró Sporozoa como un subfilo que consistía en las clases Gregarinomorpha, Coccidiomorpha y Sarcosporidia. Dividió Coccidiomorpha en dos subclases: Prococcidia y Eucoccidia y ésta última a su vez en los órdenes: Adeleidea, Eimeriidea (con los subórdenes Holoeimeriidea y Haemosporidiidea) y Sarcosporidia. Puso la clase Haplosporidia en un apéndice de Sporozoa y consideró a los miembros de la superfamilia Babesioidea como Sporozoa *incertae sedis* y a los géneros *Dactylosoma* y *Toxoplasma* como parásitos protistas *incertae sedis*.

Kudo (1966) siguió las divisiones principales de Wenyon y según esta clasificación nuestros parásitos se encontrarían en el subfilo Plasmodroma, clase Sporozoa:

- Orden Haemosporida, familia Babesiidae, género *Dactylosoma*.
- Orden Coccidia, suborden Eimeriina, familia Eimeriidae, géneros: *Eimeria* y *Lankesterella*.

En la sistemática de la Sociedad de Protozoólogos (Honigberg y col., 1964) se transfiere la clase Piroplasma de Sporozoa a Sarcodina, se separa el subfilo Cnidospora del subfilo Sporozoa, se divide Sporozoa en tres clases: Haplosporea, Telossporea y Toxoplasmea y el subfilo Cnidospora en dos subclases: Microsporidea y Myxosporidea. Igualmente, se aceptan los tres órdenes de gregarinas propuestos por Grassé (Archigregarinida, Eugregarinida y Neogregarinida). Por tanto, la familia Eimeriidae quedaría encuadrada en esta sistemática en el suborden Eimeriina, orden Eucoccida, subclase Coccidia, clase Telossporea, subfilo Sporozoa y filo Protozoa.

Levine (1973) elaboró una clasificación divergiendo considerablemente en el subfilo Sporozoa (=Apicomplexa) de las propuestas de la Sociedad de Protozoólogos. Separó los microsporidios y mixosporidios de los esporozoos y formó los subfilos Microspora y Myxospora. La clase Toxoplasmea es reconocida como coccidio y Haplospora es una clase del subfilo Microspora. En el orden Eucoccidiorida incluyó a las familias Plasmodiidae, Toxoplasmatidae, Besnoitiidae y Sarcocystidae. La primera familia pertenecía al suborden Haemosporina, mientras que las tres últimas formaban el suborden Endodyococcidiorida. Reunió los piroplásmidos con los esporozoos reteniéndolos en una clase separada, Piroplasma, cuyo ciclo de vida difiere considerablemente de la de los típicos esporozoos (clase Sporozoasida). Introduce el nombre Apicomplexa para el subfilo que contenía estas dos clases. No es nuevo el interés de Levine por cambiar el nombre de los esporozoos. Ya en 1964 cuando el Comité (del que Levine era miembro) aceptó el nombre de Sporozoa para estos organismos (por entonces un subfilo) hizo constar (nota al pie N° 12) que "The name Sporozoa is an unhappy", debido a que no todos sus miembros tienen esporas en su ciclo biológico (por ejemplo en los piroplásmidos, ni tampoco en Haemosporina), lo que venía a refrendar la postura que adoptó tres años antes, cuando propuso el nombre de Euspora para el subfilo en cuestión (Levine, 1961) y posteriormente propuso el nombre de Polannulifera y Apicomplexa. Según Levine (1988), nuestras familias quedarían incluidas en el filo Apicomplexa, clase Sporozoasida, Subclase Coccidiasina, orden Eucoccidiorina, suborden Eimeriorina, familias: Eimeriidae, Lankesterellidae y Dactylosomatidae.

Baker (1977) realizó una clasificación basada en la de 1964, en la que incorporó dos de las modificaciones de Levine: la separación de los esporozoos, mixosporas y microsporas en tres distintos subfilos y la reunión de los piroplásmidos con los esporozoos que fueron colocados en una clase separada. Prefiere el nombre Sporozoa a Apicomplexa. *Toxoplasma* es unido a los tradicionales coccidios en el suborden Eimeriina. La subclase Gregarina era dividida por Grassé (1953) en tres órdenes: Archigregarinida, Eugregarinida y Neogregarinida, el primero y el último se reproducen por esquizogonia mientras que el del medio no y por tanto, Baker, siguiendo a Kudo (1966), agrupó las gregarinas en dos órdenes Eugregarinida (sin esquizogonias) y Schizogregarinida (con esquizogonias).

En la sistemática de Levine y col., 1980 se renombran el filo Sporozoa por Apicomplexa y se divide en dos clases: Perkinsea (con la única especie *Perkinsus marinus* Perkins, 1976) y Sporozoea (con tres subclases: Gregarina, Coccidia y Piroplasma). Los haplosporidios se separan de este filo y se integran en el filo Ascetozoa y los géneros de la antigua clase Toxoplasmea se incluyen en el orden Eucoccidiorida, suborden Eimeriina. La consecuencia de la nomenclatura de esta clase

Perkinsea es que el resto de los esporozoos pueden llevar este nombre acuñado por Leuckart en 1879, reservándose para el total del filo el nombre de Apicomplexa del que Levine es autor. Se conservan los tres órdenes de gregarinas que creó Grassé en 1953. En la subclase Coccidia encontramos un orden que antes no existía, Agamococcidiida que fue creado por Levine el año anterior para acomodar a la especie *Rhytidocystis opheliae*. Según el Comité, la subclase Piroplasmia probablemente proceda de Haemosporina, pero las opiniones estaban fuertemente divididas de si este grupo debiera formar una clase separada o un suborden de Eucoccidiida. En esta sistemática nuestras familias se incluirían en el filo Apicomplexa, clase Sporozoa:

- Subclase Coccidia, orden Eucoccidiida, suborden Eimeriina, familias Eimeriidae y Lankesterellidae.
- Subclase Piroplasmia, orden Piroplasmida, familia Dactylosomatidae.

Según Margulis y col. (1990) el filo Apicomplexa se divide en tres clases: Gregarina, Coccidia y Hematozoa (con los órdenes: Haemosporida y Piroplasmida) y nuestras familias se encontrarían en el filo Apicomplexa, clase Coccidia, orden Eimeriida, familia Eimeriidae y Lankesterellidae. La especie *Dactylosoma ranarum* la incluye en la clase Coccidia pero sin más definición.

Cox (1993) afirma que en la clasificación de Levine y col. (1980) el filo Apicomplexa fue dividido en dos clases, la Sporozoa y la Perkinsea pero que existen ahora evidencias de que el género *Perkinsus*, el único género en Perkinsea, sea probablemente un flagelado (Slein, 1989) y por lo tanto el grupo se reduce a una simple categoría, aquí recogida como el filo Sporozoa, conteniendo tres clases: Gregarina, Coccidia y Piroplasma. Nuestras familias quedarían encuadradas en el Grupo 3 (esporozoos), filo Sporozoa:

- Clase Coccidia, orden Eimeriida, familias Eimeriidae y Lankesterellidae.
- Clase Piroplasma, orden Dactylosomida, familia Dactylosomatidae.

Según Cavalier-Smith (1993) los organismos del infrafilos Sporozoa se caracterizan por tener nueve centriolos simples, un complejo apical y en general (pero no universal) por producir esporoquistes y ooquistes, mientras que a los organismos del infrafilos Hematozoa (con las clases Haemosporina y Piroplasma) le faltan los esporoquistes, el complejo apical y poseen nueve centriolos triples y por tanto no pueden derivar de Coccidia como anteriormente se suponía. Estos dos infrafilos son agrupados juntos en el subfilos Gamontozoa. Gregarina y Coccidia son aquí tratadas como superclase y cada una se subdivide en dos clases: una más primitiva con parásitos extracelulares y sin merogonia (Eogregarina y Coelotrophea, respectivamente) y otra más evolucionada con parásitos extracelulares y merogonia (Neogregarina y Eucoccidia). Se crea el subfilos Apicomonada para acomodar a los apicomplexos flagelados más primitivos: *Perkinsus* y *Colpodella* (anteriormente llamado *Spiromonas*).

En esta clasificación nuestras familias se incluirían en el imperio Eukaryota, superreino Archezoa, reino Protozoa, subreino Dictyozoa, rama Bikonta, infrareino Neozoa, parvirreino Alveolata, superfilos Miozoa, filo Apicomplexa, subfilos Gamontozoa, infrafilos Sporozoa, superclase Coccidia, clase Eucoccidia, orden Eimeriida, familia Eimeriidae.

Varios géneros incluidos anteriormente en Protozoa y normalmente atribuidos a Sporozoa ahora se sabe que son procariotas: *Grahamella* y *Bartonella* (Eubacteriales), *Anaplasma*, *Eperythrozoon*, *Haemobartonella* y *Aegyptianella* (Rickettsiales).

Características generales.

Todos los miembros son parásitos y tienen un complejo apical en el extremo anterior, en un estado u otro, que está compuesto por las siguientes estructuras (algunas de las cuales se han perdido en algunos grupos):

- Uno o más anillos polares electrodensos.
- Un conoide formado por microtúbulos en espiral, con forma de cono ahuecado y truncado, debajo del anillo polar.
- Las roptrias son orgánulos electrodensos, tubulares o con forma de saco, a menudo alargados en la parte posterior, extendiéndose hacia abajo desde la región anterior dentro del conoide. Su función es secretar enzimas para la penetración celular.
- Los micronemas son orgánulos alargados, electrodensos y se extienden longitudinalmente en la parte anterior del cuerpo, al lado de las roptrias.
- Los microtúbulos subpeliculares son estructuras delgadas, electrodensas y huecas extendiéndose hacia abajo desde el anillo polar anterior hasta el anillo polar posterior. Su número varía con el grupo. Su función es de soporte y locomoción.

También poseen uno o más microporos que se abren a los lados (sólo visibles con el microscopio electrónico) y que, a menudo, se usan para la entrada de alimento. El núcleo es vesicular y puede o no contener un nucleolo. Poseen un aparato de Golgi y mitocondrias del tipo usual de los protozoos así como un retículo endoplásmico y unos gránulos y vacuolas en el citoplasma. No tienen ni cilios ni flagelos, excepto los microgametos flagelados en algunos grupos. La mayoría de ellos forman esporas, que son estados de resistencia desarrollados después de la reproducción sexual. Todos son parásitos, unos no dañan al hospedador pero algunos sí son patógenos.

El patrón básico de su reproducción es la alternancia de fases sexual y asexual. Este patrón puede estar modificado en los diferentes grupos y en algunos les faltan ciertas fases. El cigoto se forma por la fusión de gametos (singamia) y a continuación se divide por esporogonia para formar esporozoítos (llamado así porque tradicionalmente se pensaba que se formaban dentro de esporas aunque, actualmente se sabe que algunos sí se forman pero otros no). Los esporozoítos son las formas infectantes que entran en las células del hospedador y crecen. Se dividen asexualmente por endodiogenia, endopoligenia o esquizogonia en un proceso conocido como merogonia, para producir un número de merozoítos. Puede haber una generación o más de merontes y merozoítos. Si hay más de una, los merozoítos entran en una nueva célula hospedadora, se convierten en merontes y producen más merozoítos. Finalmente, algunos merozoítos dan origen a macrogamontes y otros a microgamontes. El macrogamonte se transforma en el macrogameto mientras que el microgamonte se divide y origina dos o más microgametos. Un microgameto se fusiona con un macrogameto para formar un cigoto y el ciclo se repite.

Los coccidios se encuentran en todos los vertebrados y en algunos invertebrados. Tienen un alto grado de especificidad aunque hay excepciones. No sólo son limitados en el rango de especies de hospedador sino que también tienen una cierta afinidad por ciertos sistemas, órganos, porciones de sistemas, tipo de célula específico e incluso localización específica dentro de la célula. La mayoría de las especies son estenoxenas, pudiéndose encontrar en un simple género hospedador (y en algunos casos especies), otros son mesoxenos, encontrándose en un orden y unas pocas son eurixenos, dándose en hospedadores de más de un orden o clase (Levine, 1962).

2.5.4.1. FAMILIA EIMERIIDAE MINCHIN, 1903

Según Doflein (1901) Eimeriidae se dividía en las subfamilias: Barrouxiinae, Caryosporinae, Cyclosporinae, Eimeriinae, Isosporinae y Pfeifferellinae.

A esta familia pertenecen los géneros: *Calyptospora* Overstreet, Lom y Dyková, 1992, *Crystallospora* Labbé, 1896, *Eimeria* Schneider, 1875, *Epieimeria* Dyková y Lom, 1981, *Goussia* (Labbé, 1986) Hawkings y Fournie, 1984, *Isospora* Schneider, 1881 y *Octosporella* Ray y Ragavachari, 1942. Los géneros se diferencian por el número de esporoquistes en el ooquiste y el número de esporozoitos en cada esporoquistes.

Los miembros de esta familia suelen tener un sólo hospedador (monoxenos). La esquizogonia y gametogonia se producen dentro de las células del hospedador y la esporogonia normalmente ocurre fuera del hospedador. El microgameto tiene dos o tres flagelos. El ooquiste contiene ninguno o algunos esporoquistes, cada uno conteniendo uno o más esporozoitos. Se encuentran en vertebrados e invertebrados.

2.5.4.1.1. Género *Eimeria* Schneider, 1875

Especie tipo: *E. falciformis* (Eimer, 1870) Schneider, 1875.

Hospedadores: *Rhacophorus nigropalmatus*, *R. leucomystax*, *Pterorana* sp., *Rana cyanophlyctis* y *R. limnocharis*.

Hake (1839) describió los ooquistes de coccidios del conejo *Eimeria stiedae* sin entender que la especie era un parásito y Müller (1841) dio el nombre "Psorospermien" al quiste de un mixosporidio de peces. Remak (1845) mostró que existía parecido entre el ooquiste de *Eimeria stiedae* del conejo y los psorospermos de Müller y Lieberkühn (1854) y los llamó Psorospermien. Linderman (1865) los consideró parásitos como las gregarinas, llamándolos *Monocystis stiedae*. Rivolta (1878) nombró a la especie del conejo *Psorospermium cuniculi*. Trabajos posteriores demostraron que las dos especies eran muy diferentes y *Psorospermium* desapareció de los coccidios. Otro nombre formalmente usado fue *Coccidium*, que fue introducido como un nombre genérico por Leuckart (1879) para el parásito de un conejo que llamó *Coccidium oviforme*. Más tarde descubrieron que *Eimeria* y *Coccidium* eran el mismo género, determinaron que el

nombre correcto para esta especie sería *Eimeria stiedai* y *Psorospermium cuniculi* y *Coccidium oviforme* fueron sus sinónimos.

Eimer (1870) describió el ciclo endógeno de *Gregarina falciformis* en el ratón. Esta especie fue más tarde renombrada *Eimeria falciformis* por Schneider (1875) y la designó como tipo del nuevo género. Eimer pensó que el ooquiste extendía la infección de un ratón a otro y que el coccidio se multiplicaba en el ratón por esquizogonia. Esto es verdad, pero fue negado por Schneider (1892), Labbé (1896) y otros, quienes pensaban que estaban involucrados dos géneros diferentes.

Labbé mantuvo esta visión hasta 1899, aceptando *Eimeria falciformis* y *Coccidium falciforme* como nombres de la misma especie; dijo que *E. falciformis* podría ser un estado en el desarrollo de *Coccidium falciforme*, al cual reservó el nombre correcto. Al mismo tiempo, Pfeiffer L. (1890, 1891) y Pfeiffer R. (1892) afirmaron que en el hígado del conejo el parásito se multiplicaba primero y luego producía ooquistes. Sugirieron que era una fase del ciclo, pero esta idea fue muy criticada, hasta ser probada correctamente.

Schuberg (1895) describió el ciclo de vida de *C. falciforme* en el ratón, confirmando el trabajo de Eimer. Schaudinn y Siedlecki (1897) estudiaron el ciclo de vida de *E. lacazei* del ciempiés *Lithobius forficatus* y Schaudinn (1900) completó el ciclo de vida de *E. schubergi* en el mismo ciempiés. No había duda de que *Coccidium* y *Eimeria* eran lo mismo y Stiles (1902) y Lühe (1902) dijeron que *Eimeria* tenía prioridad, aunque algunos autores todavía retuvieron el nombre de *Coccidium*. En 1907, se estableció el nombre correcto de *Eimeria stiedae* en el taxón Coccidiomorpha propuesto por Doflein en 1901.

Los ooquistes de *Eimeria* tienen cuatro esporoquistes con dos esporozoítos cada uno. Se encuentran en vertebrados y unos pocos invertebrados y produce la enfermedad llamada coccidiosis, que ocasiona daños severos en animales domésticos (conejos, pollos, ganado, etc.).

2.5.4.1.1.1. Especie *Eimeria prevoti* (Laveran and Mesnil, 1902) Doflein, 1909

Sinónimos: *Paracoccidium prevoti* Laveran and Mesnil, 1902; *Eimeria prevunti* (Laveran and Mesnil, 1902) Yakimoff y Matikaschwili, 1933 (lapsus).

Hospedadores: *Rana esculenta*.

Localización: Intestino (delgado y grueso).

Distribución: Francia. No ha sido mencionado anteriormente en la Península Ibérica.

Puesto que, en el ciclo de vida de esta especie, la pared del esporoquiste puede desaparecer dejando los 8 esporozoítos libres en el ooquiste.

2.5.4.2. FAMILIA LANKESTERELLIDAE NÖLLER, 1902

Según Doflein (1901) la familia Lankesterellidae se dividía en las subfamilias Schellackinae y Lankesterellinae.

La familia Lankesterellidae está compuesta por dos géneros: *Lankesterella* Labbé, 1899 y *Schellackia* Reichenow, 1919. La principal diferencia está en el hospedador, (*Schellackia* en reptiles, excepto *S. balli* que se encuentra en *Bufo marinus*, y *Lankesterella* en anfibios y aves) y en el número de esporozoítos por ooquiste (*Schellackia* ocho y *Lankesterella* treinta y dos o más). Según Desser, 1993 también pertenece a esta familia el género *Lainsonia* en lagartos.

Aunque los miembros de la familia son heteroxenos, la esquizogonia, gamogonia y esporogonia se dan en los tejidos del hospedador vertebrado. El desarrollo endógeno es intracelular. Tienen ooquistes con o sin esporoquistes, pero con ocho o más esporozoítos. Los esporozoítos de las células sanguíneas se transfieren por un invertebrado (ácaro, mosquito o sanguijuela) o vertebrado. Los microgamontes producen un gran número de microgametos biflagelados. Los ooquistes son asporoblásticos produciendo un número variable de esporozoítos que pueden entrar en los glóbulos rojos o blancos de la sangre. La infección es por ingestión de los esporozoítos que lleva el hospedador intermediario.

2.5.4.2.1. Género *Lankesterella* Labbé, 1899

Sinónimo: *Atoxoplasma* Garnham, 1950.

Especie tipo: *L. minima* (Chaussat, 1850) Nöller, 1912.

Hasta hace poco, las aves fueron incluidas entre los hospedadores de especies de *Lankesterella*. Tanto los estudios de Box (1970) como los de otros revelan que los estados en la sangre de las aves que se parecen a los esporozoítos de especies de *Lankesterella* eran merozoítos de coccidios de isosporas. El género *Atoxoplasma* fue resucitado por Levine en 1982 para acomodar a estos organismos.

El ciclo es heteroxeno. Los ooquistes producen 32 o más esporozoítos que en los vertebrados se encuentran en los eritrocitos con alrededor de treinta microtúbulos subpeliculares.

2.5.4.2.1.1. Especie *Lankesterella minima* (Chaussat, 1850) Nöller, 1912

Sinónimos: *Anguillula minima* Chaussat, 1850; *Drepanidium ranarum* Lankester, 1871; *D. monile* Labbé, 1894; *D. princeps* Labbé, 1894; *Haemogregarina ranarum* Celli y Sanfelice, 1890; *H. minima* (Chaussat, 1850) Mathis y Leger, 1911; *Lankesterella monilis* (Labbé, 1894) Labbé, 1899; *L. ranarum* (Lankester) Labbé, 1899.

Hospedadores: *Rana catesbeiana*, *R. clamitans*, *R. esculenta*, *R. pipiens*, *R. tigrina* y *R. septentrionalis*.

Localización: Dentro y fuera de los eritrocitos, macrófagos y monocitos sanguíneos.

Distribución: Cosmopolita. No ha sido citado anteriormente en la Península Ibérica.

Según Nöller (1912) los ooquistes de *L. minima* en *Rana esculenta* de Alemania contienen de 16-32 esporozoítos con un máximo de 50 observados y según Desser (1990) los ooquistes de *R. catesbeiana* de Canadá contienen alrededor de 70 esporozoítos.

La esquizogonia, gamogonia y esporogonia se producen en los tejidos del hospedador vertebrado. En el vector no se multiplica sólo maduran para dar los estados infectantes.

Ciclo de vida.

Según Nöller (1920) los esporozoítos penetran a través del tejido epitelial y subepitelial del intestino del hospedador vertebrado hasta los capilares sanguíneos y anidan en las células endoteliales de los vasos sanguíneos de varios órganos. En estas células se produce la merogonia y se transforman en merontes. Los merozoítos se liberan de las células y entran en la sangre para infectar a otras células endoteliales y repetir el ciclo. Después de tres o cuatro ciclos de merogonias, los merozoítos se transforman en gamontes. Le sigue la fertilización con la formación del cigoto que se rodea de una cápsula y se convierten en ooquistes con 32-50 esporozoítos. Estos esporozoítos son liberados a la sangre e invaden a los eritrocitos y los parásitos son absorbidos por la sanguijuela durante la alimentación. El parásito permanece inalterado en el intestino del vector y una vez allí infecta a las células de la pared intestinal, pero no se desarrolla, simplemente permanecen hasta que entran en el intestino de las ranas, las cuales a menudo se alimentan de sanguijuelas.

Tse y col. (1986) observaron esporozoítos de *L. minima* en las glándulas salivares de sanguijuelas que habían sido previamente alimentadas sobre ranas infectadas. Existía diferencias morfológicas entre los esporozoítos intraeritrocitarios de las ranas y los de las glándulas salivares de la sanguijuela. Sugieren que estos cambios probablemente reflejen la alta infectividad de los esporozoítos en las glándulas salivares del vector. Esto explicaría la imposibilidad de infectar ranas a través de sangre con esporozoítos y el obligado papel de la sanguijuela en el ciclo de vida del parásito (Desser, 1990).

A diferencia de las especies de *Plasmodium*, no tiene esporogonias en el vector y por lo tanto está entremedias de los coccidios y Haemosporina.

2.5.4.3. FAMILIA DACTILOSOMATIDAE (JAKOWSKA Y NIGRELLI, 1955) LEVINE, 1971

La familia Dactylosomatidae fue creada para reconocer a este grupo de "Babesioidea" en eritrocitos de animales de sangre fría donde se producen de 4 a 16 merozoitos (Jakowska y Nigrelli, 1955). Un año más tarde, estos autores crearon el género *Babesiosoma* para los dactilosómidos que producen sólo cuatro merozoitos mientras, que las especies que producen más de cuatro se mantienen en el género *Dactylosoma* (Jakowska y Nigrelli, 1956).

Las afinidades taxonómicas de la familia Dactylosomatidae han sido inciertas desde que ésta fue creada. Estos organismos han sido incluidos con los hemosporidios no pigmentados (Jakowska y Nigrelli, 1956; Manwell, 1964; Misra y Nigrelli, 1973) o piroplásmidos (Poisson, 1953; Kudo, 1966; Levine, 1971, 1985). Las observaciones de los desarrollos esporogónicos de *B. stableri* y *D. ranarum* indican que la inclusión de la familia Dactylosomatidae en el orden Eucoccidiida por Boulard y col (1982) fue justificada. Esto también ha sido confirmado por Barta y Desser (1986) y Barta y col. (1987).

Según Barta (1991) esta familia está formada por los géneros: *Dactylosoma* Labbé, 1894 y *Babesiosoma* Jakowska y Nigrelli, 1956 como originalmente propuso Jakowska y Nigrelli (1956). Los géneros *Haemohormidium* Henry, 1912 y *Sauroplasma* Du Toit, 1938, que fueron incluidos en la familia Dactylosomatidae por Levine (1971), han sido trasladados a la familia Haemohormidiidae Levine, 1984. Levine (1988) incluyó erróneamente el género *Schellackia* Reichenow, 1919 en la familia Dactylosomatidae pero este género pertenece a la familia Lankesterellidae.

Los dos géneros de la familia (*Dactylosoma* y *Babesiosoma*) son intermedios entre los parásitos adeleidos pertenecientes al género *Haemogregarina*, *Karyolysus* o *Cyrlia* y los piroplásmidos del género *Babesia* o *Theileria* (Barta, 1991).

Los organismos de esta familia se encuentran en vertebrados de sangre fría. La merogonia está presente en los eritrocitos, con formación de 4 a 16 merozoitos. El ciclo de vida completo de los dactilosómidos es desconocido aunque se sospecha que sus vectores son las sanguijuelas.

2.5.4.3.1. Género *Dactylosoma* Labbé, 1894

Especie tipo: *D. ranarum* (Lankester, 1882) Wenyon, 1926.

En las especies de *Dactylosoma* se forman de 6 a 16 merozoitos durante la merogonia en el hospedador vertebrado (Jakowska y Nigrelli, 1956). Se encuentran en anfibios, reptiles y peces.

2.5.4.3.1.1. Especie *Dactylosoma ranarum* (Lankester, 1882) Wenyon, 1926

Sinónimos: *Drepanidium ranarum* Lankester, 1882; *Laverania ranarum* (Lankester, 1871) Grassi y Feletti, 1892; *Haemogregarina ranarum* (Lankester, 1871) Celli y Sanfelice, 1891; *H. splendens* (Labbé, 1894) Laveran, 1905; *Dactylosoma splendens* Labbé, 1894.

Hospedadores: *Rana esculenta*, *R. temporaria*, *R. limnocharis*, *R. albilabris*, *R. labialis*, *R. ridibunda*, *R. tigrina*, *R. nigromaculata*, *R. galemensis*, *R. limnocharis limnocharis*, *R. rugosa*, *R. güntheri*, *R. oxyrhynchus*, *R. macarensis*, *Rappia marmorata*, *Bufo regularis*, *Bufo marinus*, *Triton* sp.

Localización: Dentro y fuera de los eritrocitos sanguíneos.

Distribución: Cosmopolita. No ha sido citado anteriormente en la Península Ibérica.

Dactylosoma ranarum fue la primera especie asignada a Piroplasmida y descrita por Lankester (1871) en los glóbulos rojos de una rana, aunque más tarde se vio que era un coccidio.

Ciclo de vida.

Sufre dos ciclos merogónicos morfológicamente distintos dentro de los eritrocitos de su hospedador anuro. Durante la primera esquizogonia se producen esquizontes grandes que se tiñen pálidamente con Giemsa y que producen hasta 16 merozoítos largos, por gemación periférica simultánea. Frecuentemente, la gemación ocurre a un lado del meronte dando la apariencia de mano, de ahí el nombre del género. Estos merozoítos inician nuevos ciclos de esquizogonias primaria o pueden empezar la secundaria donde se producen pequeños merontes, densamente teñidos, que dan lugar a 6 merozoítos pequeños por gemación periférica, destinados a producir gamontes. El desarrollo intraeritrocitario se produce dentro de una vacuola parasitófora.

Las especies de *Dactylosoma* no se sabe si son isogámicas o anisogámicas porque no se ha podido observar ni siccigia, ni singamia en el hospedador anélido. Se ha encontrado desarrollo esporogónico dentro del epitelio intestinal de una sanguijuela experimental, alimentada sobre ranas infectadas. No se ha podido observar el desarrollo de los gametos ni la formación del cigoto. Después de 14 días de la alimentación se encontraron los ooquistes de *D. ranarum* dentro del intestino de la sanguijuela. Los ooquistes eran polisporoblastos y producían 30 o más esporozoítos, por un proceso de gemación exógena, dentro del citoplasma de las células epiteliales. La producción de esporozoítos no está sincronizada dentro de los ooquistes, pues se han visto esporozoítos y esporontes multinucleados al mismo tiempo. El destino de los esporozoítos dentro de los tejidos de la sanguijuela no ha sido determinado y la transmisión experimental no se pudo intentar.

Los dactilosómidos es posible que no requieran una alta prevalencia en el hospedador vertebrado para sobrevivir y también es posible que la sanguijuela juegue un papel importante en el ciclo de vida del parásito como fuente de infección para los hospedadores vertebrados (Barta, 1991).

2.5.5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE CILIADOS

En los primeros trabajos de Leuckart (1862-1876, 1879-1886), Monadina (flagelados) y Holotricha (ciliados) formaban el grupo Infusoria, al que más tarde se dio una categoría de clase dividiéndose en dos órdenes: Flagellata y Ciliata y éste, a su vez, en cuatro grupos: Holotricha, Heterotrichia, Peritricha e Hypotrichia. Kent (1880-1882) elevó Ciliata a clase y la incluyó en el grupo Eustomata por tener especies de boca simple. Sin embargo, Bütschli (1880) seguía considerando a los ciliados en la clase Infusoria (pero sin flagelados) con dos subclases: Suctoria y Ciliata. A esta última clase la dividió en dos órdenes: Holotricha (con los subórdenes: Astomata, Gymnostomata y Trichostomata) y Spirotricha (con los subórdenes: Heterotricha, Hypotricha, Oligotricha y Peritricha).

Doflein (1901), reconociendo que los ciliados diferían de los otros miembros del grupo (por ejemplo, en la posesión de dos núcleos, uno vegetativo y otro reproductor y en la extensión de su organización cortical), divide a los protozoos en dos: ciliados (subfilo Ciliophora con la clase Ciliata) y el resto (Plasmodroma). Lankester (1903, 1909) crea un grupo sin clasificar llamado "Infusoria o Corticata Heterokaryota", para agrupar a las clases Ciliata y Acinetaria.

Wenyon (1926) retoma el subfilo Ciliophora e introduce una nueva clase, Opalinata, para acomodar a las opalinas. Divide el subfilo en dos grupos:

- Grupo 1: Protociliata, con la clase Opalinata y orden Opalinida.
- Grupo 2: Euciliata, con dos clases: Ciliata y Suctoria. La clase Ciliata a su vez se divide en dos subclases: Aspirigera y Spirigera (con los órdenes Heterotrichida y Peritrichida).

Kahl (1930) dio a los dos grupos de Wenyon el taxón de subclase y considera una única clase (Ciliata) dentro del subfilo Ciliophora. Incluyó en la subclase Euciliata tres órdenes: Holotricha (con el suborden Trichostomata), Spirotricha (suborden Heterotricha) y Peritricha (suborden Mobilia).

Pearse y col. (1936) influenciados por Bütschli y Doflein, consideran al subfilo Ciliophora con dos clases: Ciliata y Suctoria. Sin embargo, Jahn y Jahn (1949) lo agrupan en una clase con cuatro órdenes: Holotrichida, Spirotrichida, Chonotrichida y Peritrichida.

Tradicionalmente los peritricos habían sido considerados un grupo separado de los otros ciliados por sus características: ciliatura adoral y cuerpo desprovisto de ciliatura somática. Con la adquisición de nuevos datos y reinterpretación de los viejos encontrados, la escuela de Fauré-Fremiet (1950) concluyó que los peritricos debían ser considerados como otro orden de los holotricos. La clase Ciliata quedaba así dividida en la subclase Holotricha (con los órdenes Trichostomatida y Peritrichida, entre otros) y la subclase Spirotricha (con el orden Heterotrichida, entre otros).

En la sistemática de Honigberg y col. (1964) la clasificación de los ciliados fue completamente revisada por Corliss (1961) e incorporada a esta clasificación. En ella se transfieren las opalinas del subfilo Ciliophora al subfilo Sarcomastigophora y el subfilo Ciliophora (con una sola clase) se divide en cuatro subclases: Holotrichia (orden Trichostomatida, entre otros), Peritrichia (orden Peritrichida), Suctoria y Spirotrichia (orden Heterotrichida, entre otros), en total, 15 órdenes. Consideró que era más

aconsejable separar los peritricos de los holotricos al nivel de subclase, pero colocó la subclase Peritrichia inmediatamente después de la Holotrichia, indicando la cercana afinidad entre los dos grupos, innegable en la clasificación convencional.

En la clasificación francesa (Puytorac y col, 1974) los ciliados fueron elevados definitivamente a filo Ciliophora, basándose en la clasificación de Raabe (1964) donde ya se consideraba el filo Ciliata y queda dividido en tres clases: Kinetofragmophora, Oligohymenophora y Polyhymenophora, grupos que se encontraban ya en la clasificación de Jankowski (1967). En ésta clasificación la subclase Holotricha se quedó obsoleta y todas las familias previamente asignadas a esta subclase han sido ahora asignadas al orden Trichostomatida, excepto la familia Buetschliidae que se encuentra en el orden Prostomatida. De esta forma el orden Trichostomatida queda incluido en la subclase Vestibulifera (clase Kinetofragmophora), el orden Peritrichida, en la subclase Peritricha, (clase Oligohymenophora) y el orden Heterotrichida, en la subclase Spirotricha, (clase Polyhymenophora).

Prácticamente todos los especialistas coinciden en la aceptación del filo Ciliophora, con independencia del resto de los protozoos. Sin embargo, Baker (1977) todavía considera a Ciliophora como un subfilo, con la clase Ciliatea dividida en cuatro subclases: Holotrichia, Spirotrichia, Peritrichia y Suctoria.

Small (1976) sugirió que el filo Ciliophora se dividiera en dos subfilo: Cyrtophora y Rhabdophora, por las distintas estructuras orales de los trofozoitos y por sus diferencias estomatogénicas. Small y Lynn (1981) afirman que las características del cortex y de los núcleos definen un tercer subfilo, Postciliodesmatophora (un nombre derivado de Gerassimova y Seravin, 1976).

Corliss, a pesar de haber colaborado con Puytorac y los demás autores franceses en la citada clasificación, publicó casi simultáneamente (Corliss, 1974) una clasificación de los ciliados diferente (aunque semejante) de la francesa y después la ha retocado varias veces, la última vez en 1979. Según Corliss los cambios más significativos fueron:

- El reconocimiento de tres clases de ciliados (antes sólo había una): Polyhymenophora, Kinetofragminophora y Oligohymenophora.
- La división en siete subclases.
- La elevación al rango de filo.

Todos estos cambios fueron recogidos en su clasificación de 1979 y en ella nuestras familias quedarían englobadas, dentro del filo Ciliophora de la siguiente forma:

- Clase Kinetofragminophora subclase Vestibulifera orden Trichostomatida y suborden Trichostomatina: familia Balantiidae.
- Clase Polyhymenophora, subclase Spirotricha, orden Heterotrichida y suborden Clevelandellina: familia Nyctotheridae.
- Clase Oligohymenophora, subclase Peritricha, orden Peritrichida y suborden Mobilina: familia Trichodinidae.

En la sistemática de Levine y col. (1980) el filo Ciliophora ha pasado a tener 22 órdenes. El sistema es semejante al de la clasificación francesa de 1974 e indudablemente está inspirada en ella. La clase Oligohymenophora se divide en dos subclases: Hymenostomatia (con tres órdenes) y Peritrichia (con un orden). De estos cuatro órdenes sólo hay uno que no se hallaba en la clasificación de 1974, el orden Scuticociliatida. En la clase Polyhymenophora, su única subclase Spirotrichia se ha visto

reducida a cuatro de los seis órdenes que se componía en la antigua clasificación, desapareciendo el orden Tintinnida y Entodiniomorphida que ha pasado a integrarse con los kinetofragminoforeos.

Según Cox (1993) Ciliophora era ya considerada como un grupo distinto y coherente y la biología molecular no ha alterado esto, además todas las evidencias sugieren que el filo es monofilético. Pero tampoco existe acuerdo en la clasificación de los ciliados al estar definido por características somáticas y componentes orales. Los actuales conceptos del filo fueron propuestos por Levine y col (1980). Pero existen controversias entorno a las dos clases que se encuentran dentro del subfilo Rhabdophora: Prostomatea y Litostomatea (con la mayoría de los ciliados parasitológicamente importantes). El orden Trichostomatida se eleva a clase y contiene dos importantes órdenes: Vestibuliferida y Entodiniomorphida. De esta forma nuestras familias se clasificarían de la siguiente manera:

Grupo 7. Los ciliados. Filo Ciliophora:

- Subfilo Postciliodesmatophora, clase Spirotrichea, subclase Heterotrichia y orden Clevelandellida: familia Nyctotheridae.
- Subfilo Rhabdophora, clase Litostomatea, subclase Trichostomatida y orden Vestibuliferida: familia Balantiidae.
- Subfilo Cyrtophora, clase Oligohymenophorea, subclase Peritrichia y orden Mobilina: familia Trichodinidae.

En la clasificación de Cavalier-Smith (1993) los ciliados quedarían de la siguiente manera: imperio Eukaryota, superreino Archezoa, reino Protozoa, subreino Dictyozoa, rama Bikonta, infrarreino Neozoa, parvirreino Alveolata, superfilo Heterokaryota, filo Ciliophora, con 8 clases, entre ellas:

- Clase Spirotrichea, subclase Heterotrichia: familia Nyctotheridae.
- Clase Litostomatea, subclase Trichostomatida: familia Balantiidae.
- Clase Oligohymenophorea, subclase Peritrichia: familia Trichodinidae.

En definitiva, en el desarrollo de la clasificación de Ciliophora, se puede apreciar cuatro periodos principales (Corliss, 1974):

1. La Edad del Descubrimiento: Era Bütschli (1880-1930).
2. La Edad de la Explotación: Era Kahl (1930-1950). Basadas esencialmente en diferencias estructurales, distribución externa de los cilios y componentes orgánulos ciliares. La mayor diferencia entre los dos es el mayor número de taxones en el último, debido al incremento del número de especies conocidas.
3. La Edad de la Infraciliatura: Era Faurean (1950-1970). Uso de características infraciliares y aplicación de nuevos conceptos de interrelaciones filogenéticas.
4. La Era de la Ultraestructura: Era Post-Faurean (1970-). Gran incremento en el número de taxones, debido al descubrimiento de muchísimas especies y a evidencias ultraestructurales, no detectadas en años anteriores.

Características generales.

- Dualismo nuclear (con alguna rara excepción de amiconucleado). Poseen uno o más micronúcleos diploides y uno o más macronúcleos poliploides. El macronúcleo regula el metabolismo de la célula y el micronúcleo se encarga de la genética y recombinación sexual.
- Posesión de cilios simples u orgánulos ciliares compuestos (en al menos un estado de su ciclo de vida), distribuidos en varias zonas del cuerpo y/o alrededor de la boca. Los utilizan como locomoción (andar o arrastrarse), alimentación (generalmente como filtro) o, menos frecuente, como órgano táctil.
- Presencia, sin excepción, de una infraciliatura subpelicular en el cortex. La unidad básica organizativa es el kinetosoma, consistente en uno o más cuerpos basales juntos con cilios asociados, microtúbulos de 9 tripletes microtubulares y fibrillas.
- Fisión transversal binaria, básicamente homotetogénica y generalmente parakinetal (el plano de división es perpendicular al eje anteroposterior del cuerpo) pero también se dan fisiones múltiples.
- Ausencia de verdadera singamia. La reproducción sexual de los ciliados sólo se produce por conjugación, autogamia o citogamia.
- Un citostoma está generalmente presente, asociado en algunos grupos con un atrio más o menos desarrollado, vestíbulo o cavidad bucal, con cilios simples u orgánulos ciliares compuestos y siempre acompañados de una citofaringe. La nutrición es fagotrófica, ingieren nutrientes a través de la boca (citostoma-citofaringe). Después de la digestión, el residuo es excretado a través de las células ano, que puede ser una estructura bien definida (citoprocto) o un área menos organizada (citopigio). Presentan vacuolas contráctiles cuya función principal es regular el agua del citoplasma y la concentración de iones.

La mayoría de los ciliados son de vida libre y su tamaño oscila entre 4,5 μm y 10 μm . Las formas libres tienen una gran variedad de nichos ecológicos, las formas simbióticas se encuentran tanto en vertebrados como en invertebrados y relativamente pocos ciliados pueden ser considerados como verdaderos parásitos (sólo se conoce un género en el hombre, *Balantidium*). Poseen un tipo de orgánulos, inclusiones y estructuras extracorpóreas características de las células (metazoos o metafitas) y es esto por lo que algunos biólogos las llaman "criaturas acelulares". Quizá la diferencia entre los ciliados libres "pseudometazoos" y células metazoas es que éstas últimas se encuentran prisioneras de los tejidos y órganos y los ciliados son prisioneros de su unicelularidad (Fauré-Fremiet, 1952).

2.5.5.1. FAMILIA NYCTOTHERIDAE AMARO, 1972

La composición de los heterotricos no ha sufrido mucha variación desde Kahl (1932).

Durante muchísimas décadas la familia Plagiotomida (heterotrica) incluía los géneros *Nyctotherus* y *Balantidium*. Fauré-Fremiet (1955) se dio cuenta que *Balantidium* era un tricotoma y, por lo tanto, lo sacó de esta familia, mientras que Amaro (1972) fue el primero en reconocer diferencias entre *Plagiotoma*, *Nyctotherus* y "*Nyctotherus-like*". Estableció la familia Nyctotheridae para abarcar todos los géneros de la antigua familia Plagiotomidae excepto *Plagiotoma*.

Leidy en 1849, creó el género *Nyctotherus* para una ciliado que observó en un miriápodo (*N. volox*) y posteriormente, Grassé (1928) lo divide en dos subgéneros: *Nyctotherus* y *Nyctotheroides* según la presencia o no de carióforo. Esta tentativa no fue seguida por otros autores, que continuaron relacionando las especies descritas en un sólo género, *Nyctotherus*. Corliss (1961) elevó *Nyctotheroides* a rango de género y Amaro y Sena (1967) publicaron una lista de las especies comprendidas en ambos géneros, la cual fue renovada por Earl en 1972.

Sin embargo, Puytorac y Oktem (1967) afirmaron que la presencia o ausencia de carióforo no era filogenéticamente significativa y Albaret (1972) pudo mostrar en *Nyctotheroides petterae* Albaret, 1972, la existencia de un carióforo bien desarrollado. Anteriormente, Albaret (1970, 1975) había encontrado diferencias en la organización de la ciliatura en los dos géneros y afirmó que *Nyctotherus* poseía un sistema secante apical sobre el lado derecho (sistema de sutura kinetal) y *Nyctotheroides* se caracterizaba por el mismo sistema apical en ambas caras y un sistema secante caudal sobre el lado izquierdo. Restringió *Nyctotheroides* a anfibios y *Nyctotherus* al resto de los hospedadores. También colocó algunas especies de anfibios, originalmente incluidas por sus autores en el género *Nyctotherus*, en *incertae sedis*.

Según Corliss (1979) a esta familia pertenecen los géneros: *Metanyctotherus*, *Nyctotheroides*, *Nyctotherus* y *Pronyctotherus*.

Los organismos de esta familia son ovales o ligeramente reniformes. La ciliatura bucal se inicia con el peristoma que nace en el ápice de la célula o en sus proximidades y alcanza la posición subecuatorial, describiendo una curva sigmoidea. Poseen infundíbulo en la cavidad bucal. Carecen de sistema secante transversal y de aparato esquelético. La topografía ciliar es variable. Poseen un macronúcleo compacto, situado en la mitad anterior del cuerpo y un carióforo más o menos desarrollado.

Son endosimbiontes de amplia variedad de hospedadores: oligoquetos, insectos (cucarachas), miriápodos, moluscos, anfibios (adultos y renacuajos) y reptiles, pero no de peces. *Nyctotherus faba* Schaudinn, 1899 fue descrito por Schaudinn en 1899 de un caso de diarrea en un hombre que venía de América, aunque también encontró *Balantidium minutum* en el mismo individuo. Otras especies que se han visto en humanos son: *N. giganteum* y *N. africanus*.

2.5.5.1.1. Género *Nyctotheroides* Grassé, 1928

Sinónimos: *Kudoella*; *Pseudonyctotherus*; *Nyctotherus* Leidy, 1849.

Nyctotheroides fue creado por Grassé en 1928, como un subgénero del género *Nyctotherus*, en el que se incluían las especies carentes de carióforo y Corliss en 1961 lo elevó a rango de género. Albaret (1975) restringió este género para las especies de anfibios de *Nyctotherus*.

Especies de *Nyctotheroides* han sido citadas de anuros de todo el mundo. Albaret (1975) describió y redescubrió algunas especies de *Nyctotheroides* pero no dio una clave para la identificación de especies. La mayoría de estas especies se encontraron en un sólo hospedador y esto no ayuda a entender la amplia distribución posible de alguna de ellas.

2.5.5.1.1.1. Especie *Nyctotheroides cordiformis* (Ehrenberg, 1838) Grassé, 1928

Sinónimos: *Bursaria cordiformis* Ehrenberg, 1838; *Nyctotherus cordiformis* Ehrenberg, 1838; *Opalina cordiformis* Perty, 1852.

Hospedadores: *Bombina bombina*, *B. variegata*, *Bombinator igneus*, *Bufo bufo*, *B. calamitas*, *B. cinereus*, *B. marinus*, *B. viridis*, *Hyla avivoca*, *H. arborea*, *H. meridionalis*, *Litoria aurea*, *L. raniformis*, *Pseudacris clarkii*, *Pseudacris streckeri*, *Pterorana* sp., *Rana cyanophlyctis*, *R. dalmatina*, *R. esculenta*, *R. limnocharis*, *R. ridibunda*, *R. palustris*, *R. perezii*, *R. temporaria*, *Rhacophorus nigropalmatus*, *R. leucomysta* y *Taricha torosa*.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: África, América, Asia, Australia y Europa, aunque Delvinquier (1988) piensa que los autores han usado el nombre de *Nyctotheroides cordiformis* para cualquier *Nyctotheroides* encontrado en ranas. Su presencia en España había sido señalada con anterioridad por Carrera-Moro y col. (1987) en *H. meridionalis* y *R. perezii* de las Islas Canarias.

Es un parásito común del recto de ranas, donde casi siempre se encuentra asociado a *Opalina ranarum* y *Balantidium entozoon*. Según Dobell (1909), fue probablemente visto por primera vez en 1702 por Van Leeuwenhoeck y descrito por Ehrenberg en 1838, con el nombre de *Bursaria cordiformis*. Mas tarde fue renombrado como *Opalina cordiformis* por Perty (1852) y *Nyctotherus cordiformis* por Stein (1862).

Higgins (1929), observó que existían ciertas diferencias entre las formas americanas y europeas y que los organismos exhiben una gran variedad de formas y tamaños en los renacuajos de varias ranas; sin embargo, los que se encuentran en las ranas adultas son relativamente constantes en su forma.

Se han escrito varios trabajos sobre *N. cordiformis*, como por ejemplo el ciclo de vida (Wichterman, 1936), cilios táctiles (Fernández Galiano, 1948) y estructuras fibrilares (Kate, 1927).

Ciclo biológico.

Wichterman en 1936, describió el ciclo biológico de *N. cordiformis* en *Hyla versicolor*. Afirmó que la conjugación se realizaba únicamente entre los individuos que viven en los renacuajos en proceso de metamorfosis. El quiste entra en el renacuajo y se produce el exquistamiento. Se divide por fisión transversal y forma trofozoítos más pequeños que los ordinarios, hasta que en el renacuajo empieza la metamorfosis y se produce la conjugación. Se producen las divisiones micronucleares y finalmente se forman dos pronúcleos en cada conjugante. Luego sigue el intercambio y la fusión de los pronúcleos. En el exconjugante el anfinúcleo se divide en dos núcleos: un micronúcleo y un núcleo que pasa al estado de "bola espirema" antes de transformarse en un macronúcleo. Se forma el trofozoíto maduro que se divide por escisión binaria, éste se puede enquistar y eliminar a través de las heces.

2.4.5.1. **FAMILIA BALANTIDIIDAE DOFLEIN Y REICHENOW, 1929**

Sinónimo: Paranyctotheridae.

Género tipo y único: *Balantidium* Claparède y Lachmann, 1858.

El género *Balantidium*, único de la familia Balantidiidae, fue primero considerado como un heterotrico (Stein, 1867) e incluido en la familia Plagiotomidae junto con *Nyctotherus*, pero fue transferido posteriormente a los tricostomátidos siguiendo las opiniones expresadas por Fauré-Fremiet (1955) y Krascheninnikow y Wenrich (1958).

Bütschli (1889) estableció el género *Balantidiopsis* para *Balantidium duodeni* y Schaudinn (1899) unió los dos géneros de nuevo. Sin embargo, Schweier (1900), aparentemente sin conocer los trabajos de Schaudinn, añadió especies a los dos géneros, pero Bezzenberger (1904) dio las razones de por qué los dos géneros no pueden ser reconocidos como distintos y reagrupó todas las especies en *Balantidium*.

Alexeieff (1931) describió en *B. coli* y *B. testudinis* un labio siderófilo que no estaba presente en *B. entozoon*, *B. elongatum* ni *B. suis*. Basándose en esto, estableció un nuevo género, *Balantioides*. Al género *Balantidium* le colocó los organismos con un peristoma extendido y sin siderófilo y designó a *B. entozoon* como especie tipo. Al género *Balantioides* le incluyó las especies con siderófilo, nombrando a *B. coli* como especie tipo. Kudo y col. (1938) viendo que el tamaño del peristoma puede variar y que diferentes especies pueden poseer similares peristomas, llegaron a la conclusión de que el siderófilo es inadecuado para caracterizar géneros.

Los trofozoítos de esta familia se caracterizan por la presencia de un citostoma en la base del vestibulo, localizado en la parte anterior del cuerpo. Presentan ciliación somática uniforme.

2.5.5.2.1. Género *Balantidium* Claparède y Lachmann, 1858

Sinónimos: *Bursaria* Ehrenberg, 1838; *Parabursaria*; *Balantidiopsis* Bütschli, 1884; *Balantioides* Alexeieff, 1931; *Paranyctotherus* Sandon (1941).

Especie tipo: *Balantidium entozoon*.

Desde el establecimiento del género *Balantidium* por Claparède y Lachmann en 1858 para un ciliado que fue primero observado por Ehrenberg (1838) en el recto de ranas y al cual llamó *Bursaria entozoon*, se han descrito un gran número de especies de muchos animales. Son cosmopolitas y la mayoría de los miembros del género son parásitos del tubo digestivo de anfibios, pero también se encuentran tanto en vertebrados (en el hombre, cerdo, camello, cabra, primates, aves, peces, reptiles, cobayas, ratas, perros), como en invertebrados (medusas, gusanos marinos, artrópodos y moluscos). Pero el género contiene especies cuya validez es dudosa porque algunas de estas especies han sido nombradas en base a su hospedador y otras por diferencias morfológicas tales como el tamaño y forma del cuerpo, macronúcleo y citofaringe (Hegner, 1934; Qadri y Navarathram, 1966). El tamaño y la forma del parásito no son características reales porque se produce una considerable distensión cuando el parásito está lleno de partículas de comida y el tamaño también varía cuando se ha dividido, al ser las células hijas más pequeñas que la célula madre (Lamy y Roux, 1950).

Antiguamente clasificado como un heterotrico, algunas especies de anfibios e insectos fueron confundidas con *Nyctotherus*.

Existen grandes oscilaciones de tamaño dentro de cada especie que resta valor a las medidas de los ejemplares aislados y como el género es bastante homogéneo en sus caracteres morfológicos, es difícil la diagnosis diferencial entre especies próximas, sobre todo si estas coexisten en el mismo ejemplar parasitado. Ante todo esto, podemos decir que McDonal fue el primero en emplear el método estadístico para la determinación sistemática de especies en el género *Balantidium*.

No existen evidencias de que sean patógenos, excepto en el hombre donde *Balantidium coli* (Malmsten, 1857) Stein, 1862 y *B. minutum* (ahora llamado *Balantiophorus minutus*) causan balantidiosis o disentería balantidiana. Sin embargo, las formas encontradas en ranas, ingieren glóbulos rojos si estos están presentes en el tubo digestivo, pero no son patógenas.

Podemos citar algunos trabajos sobre *Balantidium* como por ejemplo los estudios del sistema fibrilar de *Balantidium* por McDonal (1922) y Fernández Galiano (1952-1955) y monografía de Grain (1966).

2.5.5.2.1.1. Especie *Balantidium duodeni* Stein, 1867

Sinónimos: *Balantidiopsis duodeni* Bütschli, 1884; *Balantidium hyalinum* Dobell, 1911.

Hospedadores: *Bombina bombina*, *B. variegata*, *Bufo bufo*, *B. calamitas*, *B. viridis*, *Rana esculenta*, *R. perezi*, *R. ridibunda*, *R. temporaria* y *R. tigrina*.

Localización: Parte anterior del intestino delgado (duodeno).

Distribución: Europa e India. En España ha sido citada anteriormente por Carrera-Moro y col. (1987) en *R. perezi* de las Islas Canarias.

Bütschli (1889) estableció el género *Balantidiopsis* para *Balantidium duodeni*, pero éste criterio no fue seguido por la mayoría de los autores que lo volvieron a colocar en el género *Balantidium*.

2.5.5.2.1.2. Especie *Balantidium entozoon* Ehrenberg, 1838

Sinónimos: *Bursaria entozoon* Ehrenberg, 1838; *Bursaria nucleus* Ehrenberg; *Paramaecium nucleus* Schrank; *Leucophrys entozoon* Stein.

Hospedadores: *Bombina bombina*, *B. variegata*, *Bombinator igneus*, *Bufo bufo*, *B. calamitas*, *B. viridis*, *H. meridionalis*, *Rana arvalis*, *R. esculenta*, *R. dalmatina*, *R. perezi*, *R. ridibunda*, *R. temporaria*, *Triturus alpestris*, *T. cristatus* y *T. taeniatus*.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: Europa.

Su presencia en la Península Ibérica había sido señalada con anterioridad:

- En el trabajo de Fernández Galiano (1955): "Los sistemas fibrilares de las especies del género *Balantidium*. II. *Balantidium entozoon* y *Balantidium galianoi*".
- Carrera-Moro y col. (1987) en *H. meridionalis* y *R. perezi* de las Islas Canarias.

Esta forma fue uno de los primeros tipos de infusorios conocidos, descrito y dibujado por primera vez por Leeuwenhoeck en 1722. Ehrenberg (1838) creó la especie *Bursaria entozoon*, designada por Claparède y Lachmann como especie tipo del género *Balantidium*.

Este organismo puede redondearse y formar quistes subesféricos de 30 µm de diámetro aproximadamente y secreta una envoltura transparente y lisa la cual permanece flexible y elástica por un tiempo. Durante este tiempo los cilios desaparecen. Si los quistes se mantienen humedecidos, pueden sobrevivir por algún tiempo fuera del hospedador.

2.5.5.2.1.3. Especie *Balantidium elongatum* Stein, 1867

Hospedadores: *Bombina bombina*, *B. variegata*, *Bufo bufo*, *B. calamitas*, *B. viridis*, *R. esculenta*, *R. ridibunda*, *R. temporaria*, *R. tigrina*, *Triturus alpestris*, *T. cristatus*, *T. helveticus*, *T. marmoratus*, *T. taeniatus* y *T. vulgaris*.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: Europa. En la Península Ibérica sólo ha sido citada anteriormente en el trabajo de Fernández Galiano (1952): "Los sistemas fibrilares de las especies del género *Balantidium*. I. *Balantidium elongatum*".

2.5.5.3. FAMILIA TRICHODINIDAE CLAUS, 1874

La primera tricodina descrita fue *Trichodina pediculus* Ehrenberg, 1830 y fue incluida en la familia Urceolariidae junto con los géneros: *Urceolaria* y *Cyclochaeta*.

Según Lom (1958) existía una gran confusión en las descripciones y morfología de la familia Urceolariidae y los géneros que se crearon (*Anhymenia*, *Cyclocyrrha*, *Acylochaeta*) o se consolidaron más tarde o fueron considerados como subgéneros (*Leiotrocha*, *Cyclochaeta*).

En la clasificación de Fauré-Fremiet (1943) esta familia sólo contiene dos géneros: *Trichodina* (subgénero *Cyclochaeta*) y *Urceolaria* (subgénero *Leiotrocha*) que fueron reconocidas por Tripathi (1948) y Hirshfield (1949). En 1945 Uzzmann y Stickney añadieron el género *Vauchomia* Mueller, 1938 citado por otros autores como sinónimo de *Trichodina*, a pesar de la importante diferencia que existía entre ellos: espiral adoral de 720°-1080° frente a los 450° de *Trichodina*. Raabe (1950) añadió a la familia el último género, *Trichodinella* Sramek-Husek, 1953. Dogel (1940, 1948) fue el primer autor que tuvo cuidado en dar unas características uniformes cuando encontró una nueva especie, para que estas descripciones pudieran ser comparadas con otras. Describió algunas especies de *Tricodina* en peces.

Corliss (1979), reconoció cinco familias dentro del suborden Mobilina. De estas cinco familias, sólo Trichodinidae incluía ciliados con denticulos complejos en el disco adhesivo. Se agruparon siete géneros dentro de la familia: *Dipartiella* Stein, 1961, *Paratrachodina* Lom, 1963, *Semitrichodina* Kazubski, 1958, *Trichodinella* Sramek-Husek, 1953, *Trichodina* Ehrenberg, 1830, *Tripartiella* Lom, 1959 y *Vauchomia* Mueller, 1938. Posteriormente un nuevo género, *Trichodoxa* Sirgel, 1983, fue creado en esta familia para acomodar a dos especies de tricodínidos parásitos del sistema genital de caracoles terrestres.

Según Van As y Basson (1989) la familia Trichodinidae incluye nueve géneros de los cuales el más grande, *Trichodina*, comprende más de 150 especies.

Los organismos de esta familia se caracterizan por tener un cuerpo cilíndrico o globoso, ocasionalmente con ligera forma de huso, o aplanada en forma discoidal o hemisférica. Los cilios de la zona adoral están colocados en espiral, llegando a dar de dos a tres vueltas casi completas. La ciliatura bucal es manifiesta, con un anillo esquelético dorsoventral y denticulos colocados radialmente.

Los representantes de la familia Trichodinidae parasitan o son simbioses de un amplio espectro de hospedadores acuáticos. Se pueden encontrar entre los tegumentos de varios invertebrados acuáticos, en la piel, vejiga urinaria y agallas de peces de agua dulce y marina así como en algunos anfibios. Las infecciones ligeras tienen pequeños efectos patológicos en el hospedador, pero las más profundas pueden causar perjuicios severos. Así, por ejemplo, algunas tricodinas que se encuentran en la piel de los peces, causan extensas lesiones cutáneas que terminan con la vida del hospedador.

2.5.5.3.1. Género *Trichodina* Ehrenberg, 1830

Sinónimos: *Cyclochaeta* Jackson, 1875; *Anhymenia* Fabre-Domergue, 1888; *Cyclocyrrha* Fabre-Domergue, 1888; *Acyclochaeta* Zick, 1928; *Paravauchomia* Raabe, 1963; *Poljanskina* Raabe, 1963.

Especie tipo: *T. pediculus* (Müller, 1786) Ehrenberg, 1838.

Desde que Ehrenberg describió *T. pediculus* en 1838, varias especies de *Trichodina* han sido descritas en diversos hospedadores. Desafortunadamente, el descubrimiento de parásitos de un nuevo hospedador y reconocimiento de una ligera variación morfológica de otras especies conocidas, fue razón suficiente para crear un nuevo género. Debido a las inexactas e insuficientes descripciones de algunos de los autores, algunas especies descritas son dudosas y difíciles de identificar, sin mencionar los errores evidentes que se cometieron en las observaciones.

Dogel (1940, 1948) fue el primer autor que uniformó criterios para nombrar a estos organismos de tal forma que su descripción pudiera ser comparada en especies individuales. Fauré-Fremiet (1943) los clasificó atendiendo al número de dientes existentes en el anillo denticulado.

Las tricodinas de anfibios representan un grupo morfológico y biológicamente uniforme (imposibilidad de vivir fuera del hospedador) aunque según Kazubski (1980) tienen una gran variabilidad debida a la variación entre las subpoblaciones. Este dato puede estar conectado con la existencia de estas tricodinas en un órgano interno del hospedador.

Son comensales o parásitos cosmopolitas de animales acuáticos (vertebrados e invertebrados).

2.5.5.3.1.1. Especie *Trichodina ranae* Da Cunha, 1950

Sinónimos: *T. urinicola* Fulton, 1923; Fauré-Fremiet y Mugard, 1946 y Favard y col., 1963.

Hospedadores: *Bombina variegata*, *Rana esculenta*, *R. lessone*, *R. perezi* y *R. ridibunda*.

Localización: Vejiga urinaria.

Distribución: Europa.

En la Península Ibérica ha sido citada anteriormente por:

- Da Cunha (1950) en *Rana perezi* de Portugal.
- Carrera-Moro y col. (1987) en *R. perezi* de las Islas Canarias.

Fue descrita por Fauré-Fremiet y Mugard (1946) bajo el nombre de *T. urinicola* Fulton, 1923, nombre usado para tricodinas que parasitan la vejiga urinaria del género *Bufo* en América del Norte (Fulton, 1923). Las especies europeas difieren de las americanas en la forma del cuerpo, pero otras características tales como las dimensiones y el disco adhesivo no se pueden comparar porque no están descritas en las especies americanas. Kazubski (1979) consideró a *T. urinicola* para las tricodinas de América y *T. ranae* para las de Europa. Kazubski (1980) hizo un análisis sobre la influencia del hospedador en la especie *T. ranae*. Estudió las especies de las ranas: *R. ridibunda*, *R. esculenta* y *R. lessone* y encontró que las diferencias entre los principales valores que caracterizaban a las tricodinas originarias de varias especies de hospedadores, son pequeñas y estadísticamente insignificantes.

Da Cunha (1950) considera a *T. ranae* inofensiva, ya que en ocasiones vio que cubrían grandes superficies del epitelio de la vejiga de la rana y a pesar del alto grado de infección, ésta mostraba una magnífica vitalidad, incluso después de algunos meses de cautiverio.

Su ultraestructura fue estudiada por Favard y col. (1963).

2.5.6. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE BLASTOCISTIS

Según Grassé (1926) los blastocistis se interpretaban de varias formas:

- * Quistes del estado evolutivo de flagelados.
 - Perroncito (1888) describió quistes de *Trichomonas* y *Blastocystis* en el intestino de cobayas. Schaudinn (1903) los consideró como autogamias enquistadas de *Trichomonas hominis*.
 - Prowazek (1904) les asigna el mismo significado en el ciclo de tricomonas de ratas, de *Eutrichomastix lacertae* y de *Octomitus intestinalis*. Más tarde (1908, 1911, 1912, 1914) se extiende a las tricomonas del hombre.
 - Bensen (1909) y Ucke (1907) son de la misma opinión. Para este último los quistes se formarían gracias al enorme desarrollo de una vacuola en las tricomonas, que desplaza el citoplasma volviéndose, posteriormente, esféricos.
 - Alexeieff (1911) considera estas microesferas como quistes de flagelados de salamandra y piensa que provienen de *Proteromonas longifila*. Describe el paso de *Proteromonas longifila* a la forma blastocistis y afirma que *Blastocystis* es, en realidad, el enquistamiento de *Proteromonas*, pero que los dos últimos estados pertenecen a *Blastocystis enterocola*, aunque reconoce que, a menudo, no existen pasos intermedios entre ellos. *Blastocystis* es, por tanto, un estado evolutivo de los flagelados, aunque meses más tarde reconocería su error.
 - James (1904), Brug (1907), Mayer (1920) y Nöller (1921) continúan considerando *Blastocystis* como los quistes de *Trichomonas* (de cobaya, rata, hámster y hombre) y Chatton (1917) los considera como estados evolutivos del género *Bodo*.
- * Células degeneradas.
 - Para Wenyon (1910) las microesferas no aparecían en el ciclo de *Trichomonas*, por tanto las estructuras de estos dos protistas no pueden ser comparadas. Tampoco se ha visto la transformación de *Trichomonas* en uno de estos pretendidos quistes de autogamias que dan el nacimiento de un flagelado y que como mucho, deben ser considerados flagelados profundamente degenerados.
 - Gäbel (1914) estima que los blastocistis del hombre son los quistes modificados por la acción de medicamentos.
 - Para Kuenen y Swellengrebel (1913) las microesferas serían el producto de la degeneración de diversas células debido a parásitos intestinales. Las formas en división resultarían de alteraciones celulares. Swellengrebel (1917) precisa su pensamiento: "Los blastocistis no son de ninguna manera de otros seres autónomos, sino el representante de una forma particular de degeneración, común a varios protozoos intestinales, rizópodos o mastigóforos". No quiere contradecir las observaciones de Alexeieff y matiza que *Blastocystis enterocola* difiere de las esférulas descritas en el hombre bajo el mismo nombre genérico.
 - Grassé (1926) comparte esta opinión y cree que los flagelados en estas circunstancias toman el aspecto de blastocistis, al formar una gran vacuola central que comprime el núcleo hacia la periferia. Estudia estas alteraciones en *Proteromonas* y afirma que se conoce también en otras especies, como por ejemplo

en algunos cultivos de *Leishmania*. En estudios citológicos más rudimentarios se puede ver que los blastocistis están siempre desprovistos de las características esenciales de mastigóforos.

- Jepps y Dobell (1918) indican que ciertos individuos degenerados de *Dientamoeba fragilis* se parecen a los blastocistis.

* Quistes de amebas.

- Esta opinión ha sido sostenida, en particular, por Scott-Macfie (1915) a propósito de amebas intestinales del hombre.

* Protistas autónomos afines a vegetales.

- Dobell (1908) cree que las microesferas de la rana son idénticas a los quistes autogámicos de *Bodo lacertae* descritas por Prowazek, les atribuye una naturaleza vegetal y les coloca al lado de los hongos inferiores.
- Alexeieff (1911) al crear el género *Blastocystis* lo considera como un estado evolutivo de *Proteromonas*, pero meses más tarde, expone su ciclo y lo coloca al lado de las levaduras. En una serie de notas (1916-1917), aporta nuevos conocimientos sobre citología y evolución. Aragao (1922) y Grassé (1925) confirmaron las observaciones de Alexeieff.
- Grassé (1926) opina que la multiplicación secundaria y la esporulación se producen en raras ocasiones, ya que son estados muy fugaces y escapan, casi con frecuencia, al observador, pero son protistas sin ninguna relación con mastigóforos ni rizópodos y por tanto, deben ser considerados como completamente autónomos, siendo sólo sus afinidades las que permanecen inciertas. Mathis (1913), Wenyon (1915 y 1920), Kofoed, Kornhauser y Swezy (1919), Low (1916), Stitt (1920), Dobell (1921) y Bosch (1924) admiten la afinidad a vegetales de estos organismos.

Características generales.

El estudio ultraestructural de Zierdt y col (1967) mostró las primeras evidencia de que los blastocistis no era nada de lo mencionado anteriormente, sino que mostraban características protistas: contienen uno o más núcleos, retículo endoplásmico liso y rugoso, aparato de Golgi, orgánulos semejantes a mitocondrias y no están rodeados de una pared celular sino de una membrana bilaminar y por tanto llegaron a la conclusión de que pertenecían al subreino Protozoa. Además, los blastocistis no crecen en medios fúngicos ni de bacterias, pero sí en medios desarrollados para protozoos intestinales, aunque requieren la presencia de bacterias para su crecimiento (mutualismo obligado). *B. hominis* no se desarrolla por debajo de 33° C (muere a 30° C) ni tampoco a pH de 5,5 y su crecimiento óptimo es a pH neutro. Son resistente a los antibióticos y antifúngicos pero sensibles a los fármacos contra protozoos intestinales. Son anaerobios estrictos, sensibles al oxígeno y a cambios en la tonicidad del medio.

2.5.6.1. FAMILIA BLASTOCYSTIDAE

En 1978, Zierdt clasificó *Blastocystis* en el subfilo Sporozoa, en base a su modo de división, morfología y características del cultivo. Sugiere una nueva clase Blastocystea, y un nuevo orden, Blastocystida. Más tarde, en 1988, lo traslada al filo Sarcomastigophora, subfilo Sarcodina, superclase Rhizopoda, clase Lobosea, subclase Gymnamoeba y orden Amoebida, en un suborden separado, Blastocystina, basándose en su motilidad y alimentación, por pseudópodos.

Sin embargo, Johnson y col., (1989) por estudios de secuenciación molecular, mostraron que *B. hominis* no es monofilético con sarcodinas ni esporozoos y sugieren que no está relacionado con ninguno de estos grupos.

Boreham (1993) afirma que la posición taxonómica de *B. hominis* permanece indeterminada, aunque probablemente, formará un nuevo grupo, posiblemente relacionado y análogo a los ameboflagelados.

Jiang y He (1993) opinan que, por el descubrimiento de pseudópodos en blastocistis, parece razonable colocarlos en el subfilo Sarcodina, pero por otro lado, según estos autores *B. hominis* se divide por múltiples fisiones y endodiogonia que son características del filo Apicomplexa, aunque no tienen el complejo apical característico del filo y por lo tanto, no puede ser colocado, ni en el subfilo Sarcodina, ni en el filo Apicomplexa y proponen un nuevo subfilo, Blastocysta, en el que se incluiría la clase Blastocystea, el orden Blastocystida, la familia Blastocystidae y el género *Blastocystis* con *B. hominis* como especie tipo.

Pero, basándose en análisis cladistas, Hollebeke y Mayberry (1994), no encuentran ninguna evidencia para considerar el subfilo Blastocysta y recomiendan que los *Blastocystis* permanezcan en *incertae sedis* dentro de los sarcodinas, hasta que el taxón pueda ser más adecuadamente definido y diagnosticado.

Stenzel y Boreham (1996) mantienen la clasificación de Jiang y He y afirman que *Blastocystis* no encaja bien en la clasificación de los protozoos, pero que no hay suficientes datos como para crear una nueva clasificación.

2.5.6.1.1. Género *Blastocystis* Alexeieff, 1911

Especie tipo: *B. hominis* Brumpt, 1912.

Según Zierdt (1988) *Blastocystis* pudo haber sido descrito por Loesch alrededor de 1849, pero al revisar los manuscritos, no pudo confirmar esto. También encontró referencias de un autor a los manuscritos de Perroncito (1889), como la primera descripción de *Blastocystis*, pero al examinarlos tampoco encontró nada. Por tanto, la primera descripción adecuada se debe a Alexeieff (1911), y a Brumpt (1912), el nombre de *B. hominis* para un organismo aislado de heces humanas, clasificado como una levadura.

Según Grassé (1926) todos los blastocistis que encontró en invertebrados, batracios y reptiles le parecían que provenían de la especie *Blastocystis enterocola*, la única especie reconocida por Alexeieff. Las variaciones de talla no significaban nada

porque en las microesferas tomadas de un mismo recto, se observaban diferencias considerables de tamaño (de 4 a 40 μm) y sin embargo, ni la forma del núcleo, ni el aspecto de los cuerpos internos, ni la distribución de inclusiones citoplasmáticas permitían establecer la separación de especies. También opinaba que las especies descritas por Brumpt (1912) (*Blastocystis sanguisugae* de *Hoemopsis sanguisuga*, *B. bufonis* de *Bufo vulgaris*, *B. cercopitheci* de *Cercopithecus ruber* y otros) son dudosas y sólo se podía mantener la especie *Blastocystis hominis* del mismo autor.

Lynch (1922) considera *Blastocystis hominis* y otras dos especies intestinales del hombre (*B. gemmagina* y *B. sporogina*) como sinónimo de *Blastocystis enterocola*. Ninguna de estas dos especies se observa en el medio de cultivo ni son, por tanto, válidas. Con relación a la especie *B. gemmagina*, ya se refiera a la alteración o a procesos normales de la formación de quistes secundarios, podemos decir que ni los textos, ni las ilustraciones permiten obtener una opinión clara de ella. En los cultivos de Grassé (*B. enterocola* de Gecko), encontró aspectos análogos a los de Lynch. Los vieron producirse en medios agotados y siempre su evolución condujo a la muerte, precedida de una disgregación más o menos completa. La segunda especie, como ya remarca Kofoed (1920), representa un *B. hominis*, parásito quizás próximo a *Sphaerita* que se encuentra a menudo en las amebas y los flagelados. No sería por otra parte el primer parásito de *Blastocystis*; Alexeieff describió una ameba *Mitrarium dangeardi*, que se nutría del cuerpo interno.

Más tarde pasa a considerarse *Blastocystis enterocola* como sinónimo de *Blastocystis hominis*.

En 1995, Belova describe 10 especie distintas de blastocistis procedentes de 10 hospedadores distintos, entre ellas se encuentra *B. lessonae* de *Rana lessona*.

Stenzel y Boreham (1996) opinan que la especie humana (*B. hominis*) es morfológicamente similar a los blastocistis aislados de animales, excepto por variaciones en el tamaño y en el contenido de la vacuola central. Han sido citados en una gran variedad de hospedadores: invertebrados (Alexeieff, 1911; Lavier, 1937 y 1952; Ciferri y Redaelli, 1938; Zaman, 1993), anfibios (Alexeieff, 1911; Beaurepaire Aragao, 1922; Lavier, 1937 y 1952; Belova, 1995), reptiles (Teow y col., 1991-1992), cerdos (Burden, 1976; Burden y col., 1978-1979), monos (McClure y col., 1980; Yamada y col., 1987), aves domésticas (Lee, 1970; Yamada y col., 1987; Belova y Kostenko, 1990; Pakandl y Pecka, 1992) y cobayas (Molet y col., 1981).

Se ha visto heterogeneidad morfológica en aislados de muestras de heces frescas de humanos. Esto puede indicar la presencia de diferentes demos o incluso de diferentes especies de *Blastocystis* en el hospedador, aunque también es probable que se deba a las distintas condiciones del medio.

La designación de especies de *Blastocystis* y la diferenciación de éstas, todavía no ha sido resuelta adecuadamente. Han sido propuestas cuatro especies de *Blastocystis*: *B. galli* Belova, 1990 de pollos, *B. anatis* Belova, 1991, de patos domésticos, *B. anseri* Belova, 1992 de gansos domésticos y *B. lapemi* Teow, 1991 de reptiles: serpientes (*Lapemis hardwickii*, *Boiga dendrophilla*, *Phyton reticulatus* y *Elaphe radiata*), tortugas (*Geochelone elephantopus*, *G. elegans* y *G. carbonaria*), cocodrilos (*Crocodylus porosus*) e iguanas (*Cyclura cornuta*).

B. lapemi fue descrito como nueva especie basándose en su diferente requerimientos óptimos de temperatura para su crecimiento (26°C en lugar de 37°C) y en su distinto cariotipo comparado con *B. hominis* (Teow y col., 1991). Las especies aisladas de aves fueron identificadas por criterios morfológicos, pero como se han visto variaciones entre blastocistis humanos, estas designaciones se deben mantener de forma cautelara hasta que se obtengan más evidencias.

Ciclo de vida.

Han sido propuestos numerosos ciclos de vida de *B. hominis*, entre ellos el de Zierdt (1973) y Singh y col. (1995) pero no concuerdan con los datos morfológicos de los últimos estudios. También se han descrito varios mecanismos de división como: la plasmotomía, esquizogonia y endodiogenia, pero sólo la fisión binaria es el único método de reproducción demostrado. Las células se dividen en dos porciones aproximadamente iguales, con distribución de orgánulos en ambos lados. Stenzel y Boreham (1996) han propuesto un nuevo ciclo biológico, basándose en los últimos datos.

La forma presente en el intestino humano parece ser la pequeña célula vacuolar sin cubierta superficial. Cuando esta forma pasa a través del intestino, las pequeñas vesículas presentes en el citoplasma, probablemente se unan y den la forma multivacuolar. Esta forma se encuentra predominantemente en las muestras fecales y está rodeada de una cubierta superficial gruesa. La pared quística se forma por debajo de la cubierta superficial, que posteriormente muda. La forma quística resultante parece ser la forma infectante de *B. hominis*. La ingestión de los quistes por un nuevo hospedador y su desenquistación, por los ácidos gástricos y enzimas intestinales, completaría el ciclo.

Zaman (1993) descubrió una alta prevalencia de blastocistis en cucarachas (*Periplaneta americana*) de Singapur. La morfología de todos los aislados era similar al de *B. hominis*, como se revela en la microscopía electrónica. Se investigó la posibilidad de que fuera un vector para los humanos, pero no existen conclusiones sobre su presencia en insectos.

2.6. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE TREMATODOS

Para clasificar a los trematodos han utilizado varios métodos. En los últimos estudios se ha comprobado la variabilidad de aspectos que antes se consideraban fijos y de valor sistemático, como por ejemplo la especificidad del primer hospedador intermediario, la forma de la vesícula excretora y las pequeñas variaciones morfológicas entre individuos de la misma especie. Algunos géneros se diferencian por la ausencia o presencia de espinas en el cuerpo, pero se ha comprobado que estas espinas se pierden rápidamente cuando empiezan a morir dentro del hospedador. La forma y el tamaño de las gónadas, así como la extensión y distribución de las glándulas vitelógenas, también se usaba frecuentemente para la diferenciación de algunas especies, pero se ha visto que la forma de las gónadas puede estar influenciada por su envejecimiento, las cuales pueden ser redondeadas al principio y algo lobuladas después de una actividad prolongada y que la distribución de las glándulas vitelógenas puede ser muy variable.

Prudhoe y Bray (1982), considerando de valor sistemático las características morfológicas y biológicas de los trematodos, hicieron una clasificación basándose en los "Host-catalogues" in the Parasite Worms Section of the British Museum (Natural History) y en el "Index-Catalogue of Medical and Veterinary Zoology" de Stiles y Hassall, publicado por United States Public Health Service, Washington. Según esta clasificación los trematodos encontrados en nuestros ejemplares quedan incluidos en:

Filo PLATHELMINTHES

Clase TREMATODA

Orden DIGenea

Suborden PROSOSTOMATA

1. Familia Paramphistomidae
 - 1.1. Subfamilia Diplodiscinae
 - 1.1.1. Género *Opisthodiscus*
 - 1.1.1.1. Especie *Opisthodicus nigrivasis*
2. Familia Plagiorchiidae
 - 2.1. Subfamilia Haematoloechinae
 - 2.1.1. Género *Haematoloechus*
 - 2.1.1.1. Especie *Haematoloechus variegatus*
 - 2.2. Subfamilia Cephalogoniminae
 - 2.2.1. Género *Cephalogonimus*
 - 2.2.1.1. Especie *Cephalogonimus retusus*
3. Familia Gorgoderidae
 - 3.1. Género *Gorgoderia*
 - 3.1.1. Especie *Gorgoderia amplicava*
 - 3.2. Género *Gorgoderina*
 - 3.2.1. Especie *Gorgoderina vitelliloba*
4. Familia Telorchiidae
 - 4.1. Subfamilia Opisthioglyphinae
 - 4.1.1. Género *Opisthioglyphe*
 - 4.1.1.1. Especie *Opisthioglyphe endoloba*

2.6.1. FAMILIA PARAMPHISTOMIDAE FISCHOEDER, 1901

La Rue (1957) denomina a esta familia Paramphistomatidae Fiscoeder, 1901 y basándose en la forma de la vesícula excretora durante todo el ciclo biológico. Incluye esta familia dentro de la superfamilia Paramphistomatoidea Stiles y Goldberger, 1910, suborden Echinostomata Szidat, 1939, orden Echinostomida y superorden Anepitheliocystidia. Schmidt y Roberts (1989) se basan en la nomenclatura de La Rue pero no consideran la forma de la vesícula excretora un buen dato para la clasificación y por tanto no contempla los niveles de superorden. Llamam a esta familia Paramphistomidae y la incluyen en la superfamilia Paramphistomoidea del orden Echinostomata.

López-Neyra (1947) divide a esta familia en 12 subfamilias entre las que se encuentra la subfamilia Diplodiscinae; sin embargo, Skrjabin (1964) la divide en 16 subfamilias pero no incluye a Diplodiscinae. Dawes (1968) reúne de nuevo las subfamilias y deja sólo dos: Diplodiscinae Cohn, 1904 y Schizamphistomatinae Looss, 1912. Yamaguti (1971) añade a las dos de Dawes, otras dos nuevas subfamilias: Progonimodiscinae, Pseudochiorchiinae.

Prudhoe y Bray vuelven a retomar a Dawes, dividiendo a la familia en sólo dos subfamilias:

- Diplodiscinae: cuerpo cónico o piriforme y ventosa posterior muy grande.
- Schizamphistomatinae: cuerpo oval y alargado y ventosa posterior más pequeña que la anchura máxima del cuerpo.

2.6.1.1. SUBFAMILIA DIPLODISCINAE COHN, 1904

López-Neyra (1947) incluye a esta subfamilia en la familia Paramphistomidae; sin embargo, Skrjabin (1964) la incluye en Diplodiscidae, pero sin el género *Opisthodiscus* al que creó una nueva subfamilia llamada Opisthodiscinae Skrjabin, 1949, en la familia Diplodiscidae y Dawes (1968) la coloca de nuevo en la familia Paramphistomidae.

Prudhoe y Bray (1982) sitúan dentro de la familia Paramphistomidae a la subfamilia Diplodiscinae donde incluye a cinco géneros: *Catadiscus* Cohn, 1904, *Diplodiscus* Diesing, 1836, *Megalodiscus* Chandler, 1923, *Opisthodiscus* Cohn, 1904 y *Progonimodiscus* Vercammen-Grandjean, 1960.

Parece ser que algunos de los géneros de esta subfamilia que infestan a anuros, se encuentran en zonas geográficas aisladas. *Diplodiscus* es el género dominante de los Diplodiscinae en la región Paleártica, Oriental, Etiopía y Australia pero en la región Neotrópica el representante es *Catadiscus* y en la región Neártica es *Megalodiscus*. Mientras que *Progonimodiscus* es específico de *Xenopus* en Etiopía.

Los organismos de esta subfamilia tienen el cuerpo cónico o piriforme. Poseen una ventosa posterior muy grande, más ancha que el cuerpo, la cual ocupa una posición ventral subterminal. Esta ventosa puede poseer una prominencia central (semejante a una ventosa), un par de protuberancias en el anillo interno (aparentemente dividiendo la cavidad de la ventosa en dos compartimentos) o su superficie puede estar provista de una franja de tejido ondulante. La faringe está formada por divertículos pareados y puede

existir un bulbo esofágico (en las claves de Yamaguti el bulbo esofágico es un carácter diagnóstico del género *Opisthodiscus*). Los ciegos intestinales son de longitud muy variable. Presentan uno o dos testículos dispuestos de forma variada.

2.6.1.1.1. Género *Opisthodiscus* Cohn, 1904

Especie tipo: *Opisthodiscus diplodiscoide* Cohn, 1904.

Según López-Neyra (1947) este género pertenece a la subfamilia Diplodiscinae, familia Paramphistomidae; pero, en 1949, Skrjabin creó para este género una nueva subfamilia, Opisthodiscinae, en la familia Diplodiscidae y Dawes (1968) lo coloca de nuevo en la subfamilia Diplodiscinae (familia Paramphistomidae).

2.6.1.1.1.1. Especie *Opisthodiscus nigrivasis* (Méhely, 1929) Odening, 1959

Sinónimos: *Opisthodiscus diplodiscoide nigrivasis* Méhely, 1929.

Hospedadores: *Bufo bufo gredosicola*, *Rana esculenta*, *R. iberica*, *R. ridibunda* y *R. perezi*.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: Paleártico Occidental (Europa y Norte de África).

Su presencia en la Península Ibérica ha sido señalada con anterioridad por:

- Combes y Gerbeaux (1970) en *R. perezi* de Gerona (Segre e Isobol).
- Combes y Sarrouy (1971) en *R. ridibunda* de Soria.
- Oliveira-Rodrigues y col. (1973) en *R. esculenta* (posiblemente se trate de *R. perezi* ya que *R. esculenta* no se encuentra en la Península Ibérica) de Portugal.
- Lluch, Roca y Navarro (1986) en *R. perezi* de Valencia (Gandía).
- Navarro y col. (1987) en *R. iberica* del Oeste del Sistema Central (Salamanca, Cáceres y Ávila).
- Martínez-Fernández, Simón-Vicente y Cordero del Campillo (1988) en *R. ridibunda* de Salamanca y León.
- Navarro y col (1991) en *Bufo bufo gredosicola* de Ávila (Gredos).
- Hernández Nevado, Regera Feo y Rallo Gruss (comunicación personal) en *R. perezi* de Cantabria (Reinosa).

O. nigrivasis es muy específico de *R. perezi* y es muy probable que su distribución sea en toda España ya que según Nadal y col. (1968), puede vivir en altitudes de 700-800 m en llano y 1000-1100 m en los Pirineos catalanes, siguiendo a su hospedador favorito, *R. perezi*.

La especie *Opisthodiscus nigrivasis* fue considerada en un principio una variedad, *Opisthodiscus diplodiscoides nigrivasis* Méhely, 1929.

Odening (1959) la subió al rango de especie, la describió e ilustró.

Ciclo biológico.

Según Simón-Vicente y col (1974) el hospedador intermediario es un molusco del género *Ancylastrum*.

En este hospedador se encuentra el esporocisto que dará lugar a la redia y a la cercaria. En la parte anterior central de la mayoría de las especies más desarrolladas de *Ancylastrum* se encuentran de seis a diez cercarias en un avanzado estado de desarrollo. Las cercarias salen del molusco y se enquistan, pero nunca en zonas oscuras, en la concha de los moluscos, ni sobre vegetales. Tampoco les atraía mucho la piel de las ranas adultas. Sin embargo en las ranas jóvenes es más probable encontrar formas adultas, posiblemente por ingestión de cercarias, en un número máximo de tres individuos maduros por rana. Las ranas adultas pueden infestarse por ingestión de las cercarias, por ejemplo al alimentarse de la piel de otras ranas infestadas de quistes de *O. nigrivasis*.

2.6.2. FAMILIA PLAGIORCHIIDAE (LÜHE, 1901) WARD, 1917

La taxonomía de esta familia ha sido objeto de numerosos estudios desde Odhner (1910) el cual presentó las características de la familia Plagiorchiidae y además nombró la familia Lepodermatidae. Ward (1917) señaló que estas familias eran sinónimas y que Plagiorchiidae era el nombre válido. La clasificación de Odhner fue generalmente aceptada hasta Baer (1924) que presentó una revisión sistemática de la familia referida como Lepodermatidae y propuso la división del grupo en dos familias: Lepodermatidae y Reniferidae. Mehra (1931 y 1937) no aceptó la división de Baer y mantuvo una sola familia, todavía llamada Lepodermatidae, pero reconoció varias subfamilias dentro de la familia (entre ellas: Cephalogoniminae y Pneumonoecinae). McMullen (1937) decidió estudiar de nuevo la familia basándose principalmente en su ciclo biológico y elevó el taxón a superfamilia, Plagiorchioidea Dollfus, 1930, incluyendo dos nuevas familias, además de las dos propuestas por Baer, la familia Lissorchiidae Magath, 1917 y Lecithodendriidae Odhner, 1910. Un examen del trabajo de McMullen nos revela que él hizo más énfasis, no al ciclo biológico, sino a la forma de la vesícula excretora en las cercarias y el adulto, especialmente en la forma "I" o "Y". La forma de la vesícula excretora como característica importante en la taxonomía parece haber sido realmente aceptada por los siguientes trabajos, particularmente por los especializados en el ciclo biológico (entre ellos, los de La Rue). En los siguientes años, los conceptos de McMullen fueron añadidos y aceptados también por Odening (1964) en una revisión de la taxonomía del suborden Plagiorchiata, donde hizo énfasis en la forma de la vejiga excretora y el número y disposición de los solenocitos, para la diferenciación de las familias. Una opinión semejante fue adoptada por Yamaguti (1971).

La Rue (1957) incluye esta familia dentro de la superfamilia Plagiorchioidea, suborden Plagiorchiata, orden Plagiorchiida, superorden Epitheliocystidia, pero eleva a la categoría de familia la subfamilia Cephalogoniminae. Schmidt y Roberts (1989) incluyen la familia Plagiorchiidae en la superfamilia Plagiorchioidea, orden Plagiorchiata.

López-Neyra (1947) llama a esta familia Plagiorchidae y considera como sinónimo de ésta, a la familia Lepodermatidae (Looss) Odhner 1912. La divide en cuatro

subfamilias: Plagiorchinae Luhe, 1901, Brachycoeliinae Looss, 1899, Pneumonoecinae Mehra, 1937 (en el que se incluye el género *Haematoloechus*) y Cephalogoniminae Looss, 1899 (con *Cephalogonimus*). Comber y Knoepffer (1965) incluyen a la subfamilia Opisthioglyphinae Dollfus, 1949 (con *Opisthioglyphe*) en Plagiorchiidae. Skrjabin (1964) divide a esta familia en varias subfamilias, entre ellas: Telorchiinae Looss, 1899, Cephalogoniminae Looss, 1899, Pneumonoecinae Menra, 1937 y Dawes (1968) en cuatro: Plagiorchiinae Lühe, 1901 (con *Opisthioglyphe*) y Haplometrinae Pratt, 1902 (con *Haematoloechus*), Encyclometrinae Nicoll, 1932 y Telorchiinae Looss, 1899. Yamaguti (1979) sin embargo, sólo la divide en tres: Plagiorchiinae (pero no se encuentra incluido *Opisthioglyphe*), Styphlodorinae y Astiotrematinae.

Prudhoe y Bray piensan que es muy difícil decidir si las ramas de la forma "Y" son brazos de la vesícula o son dilataciones de los tubos colectores abriéndose dentro de la terminación distal de la forma "T". Además, existen varios ejemplos de especies de esta familia cuya vejiga tiene formas muy variables; por ejemplo, Baer (1924) señaló que el adulto de *Odhneria bolognensis* (*Encyclometra colubrimurorum*) tenía una vesícula excretora "extremadamente variable" con forma de saco o de "Y". Otro ejemplo de esto es *Manodistomum* (*Plagitura*) *parvum* Stunkard, 1936 quien describió a la cercaria y metacercaria con una vejiga en forma de "T" y en el adulto con forma de "Y". Por todo esto se considera que la forma de la vejiga es insatisfactoria como característica fundamental para el diagnóstico. Además, en años recientes se ha visto que la pared de la vejiga es muy delgada y flexible y que esta forma puede cambiar por presión de los órganos que la rodean, pero más por la acumulación de fluidos en la vejiga. Por tanto, Prudhoe y Bray no consideraron ninguna de las clasificaciones anteriores sino que se basaron en características morfológicas y biológicas, más comparables con los conceptos de Odhner, Fuhrmann y Mehra.

Dividen a la familia en tres subfamilias:

- Plagiorchiinae, con poro genital próximo y anterior a la ventosa ventral, en el centro o marginal.
- Haematoloechinae, con poro genital ventral y más arriba del esófago o faringe.
- Cephalogoniminae, poro genital anterior o dorsal a la ventosa ventral.

2.6.2.1. SUBFAMILIA HAEMATOLOECHINAE (TEIXEIRA DE FREITAS Y LENT, 1939) YAMAGUTI, 1958

López-Neyra (1947) y Skrjabin (1964) llaman a esta subfamilia *Pneumonoecinae* Mehra, 1937 y Dawes (1968) y Schell (1970) la denominan *Haplometrinae* Pratt, 1902 (familia *Plagiorchiidae*).

Odening (1964) elevó la subfamilia *Haematoloechinae* (*Pneumonoecinae*) al rango de familia, *Haematoloechidae*, dándole la misma diagnosis de la subfamilia, aunque cree que la nueva familia podría estar caracterizada por los largos brazos en forma de "Y" de la vesícula excretora y por la posición del poro genital en la bifurcación del intestino. Podrían señalarse también otras cualidades como el útero muy ramificado, característica que Prudhoe y Bray (1982) consideran para esta subfamilia ya que muestra cercana afinidad con otras subfamilias de la familia *Plagiorchiidae*.

Según estos autores, a esta subfamilia pertenecen cinco géneros: *Haematoloechus* Looss, 1899, *Metahaematoloechus* Yamaguti, 1971, *Neohaematoloechus* Odening, 1960, *Ostiolum* Pratt, 1903 y *Skrjabinoeces* Sudarikov, 1950.

Los organismos de esta subfamilia tienen un cuerpo algo afilado en la parte anterior y un poco aplastado dorsoventralmente. La pared del cuerpo es muy delgada y delicada y su superficie puede ser lisa o cubierta completa o parcialmente de espinas. La ventosa oral se encuentra moderadamente desarrollada y la ventral está desarrollada de forma variable e incluso puede estar ausente. El aparato digestivo incluye una faringe muscular que se abre hacia la bifurcación intestinal directamente o a través de un corto esófago y los ciegos intestinales, que alcanzan la región más posterior del cuerpo. El poro genital se encuentra ventralmente a la faringe o el esófago. El saco del cirro es cilíndrico o claviforme, puede ser muy largo, alcanzando o sobrepasando posteriormente a la ventosa ventral y contiene una vesícula seminal enrollada, una glándula prostática escasamente diferenciada y un cirro grueso. Los testículos son redondeados o lobulados y dispuestos variablemente, normalmente entre los ciegos intestinales, raramente de forma lateral a ellos. El ovario es redondeado o lobulado y situado en la ventosa ventral o cerca de ésta, anteriormente a los testículos y a escasa distancia de ellos. El receptáculo seminal es grande y el canal de Laurer no ha sido detectado todavía. Las glándulas vitelógenas se encuentran ordenadas de forma variable, en rosetas o en forma de racimos de uvas y se extienden a lo largo de los ciegos. Las ramas uterinas, ascendente y descendente, pasan entre los testículos. El útero forma ramas transversales entre los ciegos intestinales, desde la bifurcación del intestino hasta el extremo posterior del cuerpo y puede ir de forma lateral más allá de los ciegos, aunque generalmente se encuentra ventralmente hacia las gónadas y las glándulas vitelógenas. La vesícula excretora tiene forma de "Y". Los huevos son muy numerosos y embrionados.

2.6.2.1.1. Género *Haematoloechus* Looss, 1899

Sinónimos: *Haematoloecha* Stal, 1814; *Pneumonoeces* Looss, 1902; *Ostiolum* Pratt, 1903; *Pneumobites* Ward, 1917.

Especie tipo: *Haematoloechus (Distoma) variegatus* Rudolphi, 1819.

Haematoloechus Looss, 1899 es uno de los trematodos más comunes y ha sido citado en casi todos los continentes. Aunque Looss nombró al género en 1899, lo renombró *Pneumonoeces* en 1902. Ésto lo hizo porque Ställ en 1874 dio el género *Haematoloecha* a un hemiptero. Harwood (1932) e Ingles (1932) por separado dijeron que el primer nombre elegido para este género no era inválido y debería colocarse acorde con el Código Internacional de Nomenclatura Zoológica. Aunque algunos autores entre ellos López-Neyra (1947), Skrjabin y Antipin (1962), mantuvieron *Pneumonoeces*.

Se han aplicado nombres genéricos adicionales a trematodos de este grupo. Ward (1917) aceptó el género *Pneumonoeces* pero afirmó que un grupo de trematodos, de este género debería ser separado como un nuevo género al cual le dio el nombre de *Pneumobites*, con *Pneumobites longiplexus* Stafford, 1902 como especie tipo.

El género *Ostiolum* Pratt, 1903 se diferenciaba de *Haematoloechus* sólo por la ausencia de vueltas extracecales en el primero y la presencia de una o dos vueltas en el último. Odening (1960) y Skrjabin (1964) también aceptaron este género como válido.

Mehra (1937) admite sólo el género tipo *Pneumonoeces* Looss, 1902, con los caracteres de la subfamilia, teniendo como sinónimos a *Haematoloechus* Looss, 1899 y considera al género *Ostiolum* Pratt, 1903 como subgénero del primero, diferenciándolo de él porque en *Pneumonoeces* nacen del útero ramas ascendentes extracecales desde el extremo posterior del cuerpo, que no existen en *Ostiolum*.

En 1991, Lluch, Navarro y Pérez-Soler crean la especie *Haematoloechus carbonelli* para un trematodo cuya área de distribución conocida se encontraba restringida a la Sierra de Gredos, siendo especialmente abundante en los circos glaciales más altos y en su hospedador habitual, *Rana ibérica*, pero Navarro y col. (1991) encuentran este trematodo en *Bufo bufo gredosicola* de las zonas más bajas de la Sierra de Gredos.

2.6.2.1.1.1. Especie *Haematoloechus variegatus* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899

Sinónimos: *Distoma (Brachylaimus) variegatum* (Rudolphi, 1819) Dujardin, 1845; *Distomum cylindraceum* Zeder, 1800; Pachinger, 1888; *Pneumatoloecha variegatus* (Rudolphi, 1819) Looss, 1902; *Pneumonoeces variegatus* (Rudolphi, 1819) Looss, 1902.

Hospedadores: *Calopterys virgo*, *Rana arvalis*, *R. esculenta*, *R. iberica*, *R. perezi*, *R. ridibunda* y *R. temporaria*.

Localización: Pulmones.

Distribución: Repartida ampliamente por toda la región Paleártica, posiblemente sea cosmopolita.

En toda la Península Ibérica donde ha sido citada en repetidas ocasiones por:

- López-Neyra (1947) en *R. esculenta* (posiblemente sea *R. perezi*) de Granada y de Madrid.
- Combes y Knoepffler (1965) en *R. perezi* de Ávila (Sierra de Gredos).
- Combes y Sarrouy (1971) en *R. perezi* de Soria.
- Oliveira-Rodrigues y col. (1973) en *R. perezi* de Portugal (Coimbra).
- Rodríguez y col. (1986) en *R. perezi* de Levante.
- Lluch y Roca y Navarro (1986) en *R. perezi* de Levante.
- Navarro y col. (1987) en *R. ibérica* del Oeste del Sistema Central (Salamanca, Cáceres y Ávila).

Skrjabin (1964) considera a la especie *Pneumonoeces variegatus* con tres subespecies: *P. v. variegatus* Rudolphi, 1819, *P. v. abbreviatus* Bychowsky, 1932, *P. v. dubininae* Odening, 1958. Odening (1958) añade dos subespecies más: *P. v. almorai* (Pande, 1937) y *P. v. capyristes* (Kein, 1905). Williams y Coker (1967) incluyen una sexta subespecie: *P. v. leonensis*.

Ciclo biológico.

Según Prudhoe y Bray (1982) el primer hospedador intermediario es un caracol y el segundo, una larva de culícido.

Los huevos salen con las heces del hospedador definitivo y son normalmente ingeridos por un caracol, eclosionando en su intestino. El miracidio atraviesa la pared del intestino, se establece en el hepatopáncreas y se desarrolla a esporocisto y posteriormente a xifidocercaria ornamentada con cinco pares de glándulas de penetración. La cercaria sale a través del ano y entra por las branquias de larvas acuáticas de varios insectos o entre las articulaciones del abdomen del insecto. Estas avanzan a través de los tejidos del hospedador, colonizan varios sitios y se enquistan como metacercarias o permanecen libres y ocasionalmente desarrolla progenies en el insecto adulto. Algunas cercarias no escapan de su molusco hospedador, sino que permanecen enquistadas en el esporocisto. Estas darán lugar al adulto, al ser ingeridas por el hospedador definitivo.

2.6.2.2. SUBFAMILIA CEPHALOGONIMINAE LOOSS, 1899

La Rue (1957) eleva esta subfamilia al rango de familia: Cephalogonimidae Nicoll, 1915 y la incluye provisionalmente en la superfamilia Plagiorchioidea Dollfus, 1930, suborden Plagiorchiata, orden Plagiorchiida. Pero según López-Neyra (1947) y Skrjabin (1964) es una subfamilia que pertenece a la familia Plagiorchiidae. Dawes (1968) y Yamaguti (1979) están de acuerdo con la denominación de la subfamilia Cephalogoniminae pero dentro de la familia Cephalogonimidae Nicoll, 1915, junto con la subfamilia Paracephalogoniminae. Schell (1970), igualmente está de acuerdo con La Rue en que es una familia.

Prudhoe y Bray (1982) vuelven a considerar esta subfamilia dentro de la familia Plagiorchiidae con dos géneros: *Cephalogonimoides* Brooks y Buckner, 1976 y *Cephalogonimus* Poirier, 1886.

Los organismos de esta subfamilia tienen un cuerpo espinoso, alargado o elíptico. Las ventosas pueden ser de tamaño similar o la ventral bastante más pequeña y se sitúan en la mitad anterior del cuerpo. La ventosa oral es subterminal. La faringe es pequeña y el esófago corto, bifurcándose por encima de la ventosa ventral. Los ciegos pueden extenderse hasta la zona más posterior del cuerpo. El poro genital se encuentra situado anteriormente y es terminal, pero, en ocasiones, puede estar situado lateral o posterolateral a la ventosa oral. El saco del cirro es claviforme, en raras ocasiones largo alcanzando a la ventosa ventral y engloba una vesícula seminal bipartita y voluminosa, una glándula prostática y un largo conducto eyaculador. Los testículos son redondeados u ovalados transversalmente, situados uno inmediatamente detrás del otro, más o menos en tandem, en el tercio medio del cuerpo. El ovario se encuentran situados posterolateral o lateralmente a la ventosa ventral. Tiene canal de Laurer. El receptáculo seminal es relativamente grande. Las glándulas vitelógenas normalmente recorren de forma lateral el tercio medio del cuerpo, pero pueden extenderse anteriormente más allá de la ventosa ventral. El útero pasa entre los testículos y ocupa la mayor parte de la región por detrás de ellos. La rama uterina descendente forma pequeñas ramas transversales a la derecha de la línea media y la rama ascendente, por el lado izquierdo. La vesícula excretora tiene forma de "Y", a veces con varios brazos en el pie. El patrón de los solenocitos es el típico de la familia (n=36). Los huevos son pequeños. Es un parásito de anfibios y reptiles.

2.6.2.2.1. Género *Cephalogonimus* Poirier, 1886

Especie tipo: *Cephalogonimus lenoiri* Poirier, 1886.

Lent y Freitas (1940) consideraron *C. europaeus* y *C. americanus* como especies válidas pero muchos otros las consideran como sinónimas de *C. retusus*.

2.6.2.2.1.1. Especie *Cephalogonimus retusus* (Dujardin, 1845) Odhner, 1910

Sinónimos: *Distomum (Brachycoelium) retusum* Dujardin, 1845; *Cephalogonimus europaeus* Blaizot, 1910; *Cephalogonimus rotusus* Chandler, 1924.

Hospedadores: *Bombina variegata*, *Rana esculenta*, *R. perezi*, *R. ridibunda*, *R. temporaria* y *Tritodonotus natrix persa*.

Localización: Intestino delgado y colédoco.

Distribución: Canadá, Europa y U.S.A.

Ha sido localizado en la Península Ibérica en varias ocasiones:

- Travassos (1932) en *Rana* sp. de Portugal.
- López-Neyra (1947) en *R. esculenta* (posiblemente sea *R. perezi*) de Granada.
- Comber y Knoepffler (1965) en *R. perezi* de Ávila (Sierra de Gredos).
- Combes y Gerbeaux (1970) en *R. perezi* de Gerona (Segre e Isobol).

- Combes y Sarrouy (1971) en *R. perezi* de Soria.
- Oliveira-Rodrigues y col. (1973) en *R. perezi* en Portugal (Coimbra).
- Lluch y Roca y Navarro (1986) en *R. perezi* de Alicante (Orcheta) y Levante.
- Lluch (1990) en *R. perezi* del Pirineo Central (Aragón).
- Galeano y Navarro (1991) en *R. perezi* de la porción septentrional del Sistema Ibérico.

Ciclo biológico.

Según Prudhoe y Bray (1982) el primer hospedador intermediario es un caracol y el segundo, un renacuajo.

Los huevos eclosionan en el intestino del caracol. El miracidio penetra por la pared del intestino y sufre la metamorfosis a esporocisto dentro del intestino. Los esporocistos hijos se desarrollan en el esporocisto madre del cual se liberan, emigran al hepatopáncreas y se encapsulan. De estos esporocistos se desarrolla la xifidocercaria que sale del caracol y busca a un renacuajo como segundo hospedador intermediario. Las cercarias se enquistan en las vísceras de alrededor de la boca y en la pared del intestino del hospedador. Por otra parte las cercarias también están preparadas para penetrar a través de la piel de la rana y allí se enquistan. Parece ser que las ranas se infestan cuando tragan su propia piel con las metacercarias enquistadas, o cuando se alimentan de renacuajos infestados. Lang (1968) especuló con la posibilidad de que las cercarias penetrasen por el cuerpo de la rana enquistándose en la pared del intestino y luego pasasen al lumen.

2.6.3. FAMILIA GORGODERIDAE (LOOSS, 1899) LOOSS, 1901

Travassos (1922) divide esta familia, según la forma de las glándulas vitelógenas y de los testículos, en tres subfamilias: Gorgoderinae (con los géneros *Gorgoderina* y *Gorgoderina*), Anaporrhutinae y Gallodistominae. López-Neyra (1947) sigue la misma subdivisión.

La Rue (1957) coloca provisionalmente esta familia dentro de la superfamilia Allocreadioidea Nicoll, 1934, suborden Plagiorchiata, orden Plagiorchiida, superorden Epitheliocystidia. Schmidt y Roberts (1989) la colocan definitivamente en la superfamilia Allocreadioidea y orden Plagiorchiata.

Sin embargo, Skrjabin (1964) divide la familia en cuatro subfamilias, según el número de testículos y la presencia o ausencia de faringe, en: Anaporrhutinae Looss, 1901, Plesiorchinae Pigulevsky, 1952, Gorgoderinae Looss, 1901 (género *Gorgoderina*) y Phyllodistomatinae Pigulevsky, 1952 (género *Gorgoderina*). Mientras que Yamaguti (1979) la divide en dos: Phyllodistominae y Gorgoderinae (con los géneros *Gorgoderina* y *Gorgoderina*). Schell (1970) mantiene la familia Gorgoderidae sin dividirla en subfamilias.

Prudhoe y Bray (1982) están de acuerdo con Schell y consideran dentro de esta familia cuatro géneros: *Gorgoderina* Looss, 1902, *Gorgoderina* Looss, 1899, *Phyllodistomum* Braun, 1899 y *Progorgoderina* Brooks y Buckner, 1976.

Los organismos de esta subfamilia se caracterizan por tener un tamaño muy variado ya que podemos encontrar desde pequeños hasta grandes, con una fina musculatura corporal y sin espinas. Las ventosas están bien desarrolladas: la oral es subterminal y la ventral está situada en la mitad anterior del cuerpo. Las especies de peces y anfibios no tienen faringe. La bifurcación cecal se encuentra entre las ventosas y los ciegos y se extienden hasta cerca del extremo posterior del cuerpo. El poro genital se sitúa en el medio, cerca de la bifurcación intestinal. El saco del cirro y el cirro no están desarrollados. La vesícula seminal y el conducto eyaculador están presentes. Las glándulas prostáticas están débilmente desarrolladas. Tienen dos testículos situados de forma simétrica u oblicua a ambos lados, en el tercio medio del cuerpo, son uniformes o divididos en folículos acentuados. Tiene canal de Laurer. Las glándulas vitelógenas forman dos masas compactas lobuladas o uniformes, situadas entre los ciegos enfrente del ovario. El útero se extiende por la región posterior del cuerpo. La vesícula excretora es un tubo simple recto o sinuoso y ocasionalmente en forma de "Y". El patrón de los solenocitos varía. Los huevos son pequeños, numerosos y sin opérculo. Son parásitos de la cavidad corporal, uréteres o vejiga urinaria de peces, anfibios y reptiles.

2.6.3.1. Género *Gorgodera* Looss, 1899

Especie tipo: *Gorgodera (Distoma) cygnoides* Zeder, 1800.

Pigulevsky (1952) propuso cinco subgéneros para este género con características que son muy variables. Una exhaustiva comparación de los miembros sugiere que es muy artificial lo propuesto por Pigulevsky. Además, la diferenciación de los subgéneros se rompe cuando los individuos de la misma especie de distintas edades y en variables estados de desarrollo se aplican a este género.

González-Castro (1942) crea una variedad, *Gorgodera circava* var. *granatensis*, ya que los trematodos presentaban diferencias morfométricas, aunque no suficientes como para crear una nueva especie sino, mas bien, eran variaciones de la especie *Gorgodera circava* de Norteamérica. Sin embargo, los autores posteriores recogen esta variedad como una nueva especie, *Gorgodera granatensis* González-Castro, 1942.

Lluch y Roca y Navarro (1986) consideran (al igual que Combes, Knoepffler y Sarrouy) que el género tiene un alto grado de variabilidad en los caracteres considerados de valor sistemático, lo que hace deseable una exhaustiva revisión del género.

2.6.3.1.1. Especie *Gorgodera amplicava* Looss, 1899

Sinónimos: *Distoma cygnoides* var. *amplicava* Bensley, 1897; *Gorgodera circava* Guberlet, 1919.

Hospedadores: *Ambystoma maculatum*, *Bufo* sp., *Hyla versicolor*, *Pseudotriton*, *Rana castebiana*, *R. clamitans*, *R. palustris* y *R. perezi*.

Localización: Vejiga urinaria.

Distribución: América del Norte.

En España sólo se ha mencionado *Gorgodera circava* var. *granatensis*.

Ciclo biológico.

Según indica Yamaguti (1975), *Musculium partumeium* (molusco) y *Helisoma antrosum* (caracol) fueron determinados por Loos (1894) como primer y segundo hospedador intermediario respectivamente.

Del esporocisto madre se desarrolla en el *Musculium partumeium* el esporocisto hijo con dieciséis cercarias bien desarrolladas. Los esporocistos ocupan la terminación proximal de las branquias de las almejas. Del esporocisto salen las xifidocercarias que tienen un estilete afilado y curvado dorsalmente y seis pares de glándulas de penetración, se introducen en el *Helisoma antrosum* y se enquistan en los tejidos que rodean al intestino cerca del corazón. De estos quistes se desarrolla una metacercaria sin estilete que dará lugar al adulto al ser ingeridas por el hospedador definitivo.

2.6.3.2. Género *Gorgoderina* Looss, 1902

Sinónimos: *Microlecithus* Ozaki, 1926.

Especie tipo: *Gorgoderina simplex* (Looss, 1899) Looss, 1902.

Pereira y Cuocolo (1940) dividen el género en dos subgéneros según el ordenamiento de las glándulas vitelógenas:

- *Gorgoderina*, cuya especie tipo es *G. (Gorgoderina) vitelliloba*, con glándulas dispuestas en tres folículos.
- *Neogorgoderina*, con *G. (Neogorgoderina) simplex* como especie tipo, con glándulas formando masas compactas o ligeramente lobuladas.

Este intento de agrupar las especies en dos subgéneros fue seguido por Pigulevsky (1952) que propuso otra división subgenérica:

- *Gorgoderina*, cuya especie tipo era *G. (Gorgoderina) simplex*, con glándulas vitelógenas situadas mucho más abajo de la ventosa ventral.
- *Goritma*, con *G. (Goritma) parvicava* como especie tipo, cuyas glándulas vitelógenas llegan justo debajo de la ventosa ventral.

Un estudio comparativo de las distintas especies de *Gorgoderina* muestra que no es muy sólida esta división. Sobre esta cuestión Fernández Galiano propuso mantener los subgéneros de Pigulevsky pero con un concepto diferente:

- *Gorgoderina* con glándulas vitelógenas ligera o profundamente lobuladas.
- *Goritma* con glándulas vitelógenas de bordes lisos.

También propuso un tercer subgénero *Metagorgoderina* con su especie tipo *G. (Metagorgoderina) rochalimai*, con glándulas vitelógenas dispuestas en dos rosetas abiertas individualmente a un canal vitelógeno.

Esta última división también es muy dudosa porque un mismo individuo de la especie *G. vitelliloba* puede poseer indistintamente glándulas vitelógenas de un lado del cuerpo lisas y del otro lado del cuerpo lobuladas. Además, en algunas formas es difícil decidir si las glándulas vitelógenas son profundamente lobuladas o son una agregación de folículos individuales. De hecho, *G. vitelliloba*, muestra a veces, unas glándulas vitelógenas trilobuladas, mientras que otras veces se observa una roseta de tres folículos. Por lo tanto Prudhoe y Bray no consideraron ningún subgénero del género *Gorgoderina*.

2.6.3.2.1. Especie *Gorgoderina vitelliloba* Olsson, 1876

Sinónimos: *Cercaria macrocerca* Filippi, 1854; Ruskowski, 1926; *Distomum vitellilobum* Olsson, 1876;.

Hospedadores: *Bombinator igneus*, *Bufo bufo*, *B. vulgaris*, *Rana arvalis*, *R. iberica*, *R. perezii*, *R. ridibunda* y *R. temporaria*.

Localización: Vejiga urinaria.

Distribución: Asia Menor, Europa y Marruecos.

Es muy común en toda la Península Ibérica y ha sido citado anteriormente por:

- Comber y Knoepffer (1965) en *R. iberica*, *R. ridibunda* y *B. bufo* de Ávila (Sierra de Gredos).
- Lluch y Roca y Navarro (1986) en *R. perezii* de Valencia (Gandía).
- Navarro y col. (1987) en *R. ibérica* del Oeste del Sistema Central (Salamanca, Cáceres y Ávila).
- Navarro y col. (1991) en *Bufo bufo gredosicola* de Ávila (Gredos).

Ciclo biológico.

Según Combes (1968) *Sphaerium* sp. o *Pisidium* sp. (moluscos) es el primer hospedador intermediario y *Sialis lutaria* (insecto) el segundo.

Los huevos salen al exterior y eclosionan en el agua. El miracidio penetra por las branquias del molusco y da lugar a la generación de esporocistos (10-25 esporocistos por molusco). Del esporocisto madre se desarrollan los esporocistos hijos que contienen tanto cercarias libres como enquistadas. Las cercarias tienen doce pares de glándulas de penetración y estilete, aunque no le sirve para penetrar en el hospedador intermediario. Estas salen del molusco y son ingeridas por un renacuajo o por una larva de insecto (*Sialis lutaria*) donde se enquistan. Las metacercarias permanecen en el cuerpo del renacuajo o de la larva durante la metamorfosis. Las ranas adultas se infestan al alimentarse de organismos portadores de metacercarias, las cuales se desenquistan y aparecen en la vejiga urinaria.

Lees y Mitchell (1964) encontraron que el sitio preferido de *Gorgoderina vitelliloba* eran los riñones en el renacuajo y la vejiga urinaria en las ranas.

2.6.4. FAMILIA TELORCHIIDAE STUNKARD, 1924

Mehra (1937) considera esta familia como subfamilia Telorchiinae y la incluye dentro de la familia Plagiorchiidae. López-Neyra (1947), Skrjabin (1964) y Dawes (1968) siguen el mismo criterio.

Yamaguti (1979) la divide en tres subfamilias: Loeftgreniinae, Orchidasmatinae y Telorchiinae. Pero a ninguna de estas subfamilias pertenecía el género *Opisthioglyphe* porque consideraba que la subfamilia Opisthioglyphinae era sinónima de Omphalometrinae Looss, 1892 (familia Omphalometridae Bittner y Sprehn, 1928) donde incluye a este género.

Schmidt y Roberts (1989) de acuerdo con Yamaguti colocan a la familia Omphalometridae en la superfamilia Plagiorchioidea, orden Plagiorchiata. La Rue no menciona ninguna de las dos familias.

Según Prudhoe y Bray (1982) la familia se divide en dos subfamilias:

- Telorchiinae, con glándulas vitelógenas que no se extienden más allá de los testículos.
- Opisthioglyphinae, con glándulas vitelógenas que se extienden hasta el extremo posterior del cuerpo.

2.6.4.1. SUBFAMILIA OPISTHIOGLYPHINAE DOLLFUS, 1949

Yamaguti (1979) considera a esta subfamilia como sinónima de la subfamilia Omphalometrinae Looss, 1892, incluida dentro de la familia Omphalometridae Bittner y Sprehn, 1928 y es en esta subfamilia donde se encuentra el género *Opisthioglyphe*. Sin embargo, Dollfus (1963) y Comber y Knoepffer (1965) lo incluyen en la subfamilia Opisthioglyphinae pero ésta pertenece a la familia Plagiorchiidae Lühe, 1901.

Skrjabin (1964) y Dawes (1968) no consideran a esta subfamilia y por tanto *Opisthioglyphe* pertenece a la subfamilia Telorchiinae, familia Telorchiidae.

Según Prudhoe y Bray (1982) a esta subfamilia pertenecen dos géneros: *Dolichosaccus* Johnston, 1912 y *Opisthioglyphe* Looss, 1899.

Los organismos de esta subfamilia tienen un cuerpo alargado u oval y con pequeñas espinas semejantes a escamas, al menos en la parte anterior. La ventosa ventral puede estar situada en la zona central o en una zona anterior y la oral es subterminal. La faringe es pequeña y el esófago es de longitud variable. Los ciegos intestinales son largos, estrechos y simples y normalmente alcanzan el extremo posterior del cuerpo. El poro genital se encuentra situado en la línea media o a la izquierda, anterior a la ventosa ventral. El saco del cirro puede presentar distintas longitudes. Los dos testículos están dispuestos variablemente en la zona posterior y el ovario se encuentra en ocasiones en la ventosa ventral pero también puede estar situado un poco más al margen de ésta y separado de los testículos por un gran bulto del útero. Tiene canal de Laurer y receptáculo seminal. Las glándulas vitelógenas se extienden por los laterales, en la parte posterior del cuerpo. El útero presenta ramas transversales que se extienden entre los testículos y la ventosa ventral. La vesícula excretora tiene forma de "Y", con un pie largo y unos brazos de longitud variable. El patrón de los solenocitos es variable, pero normalmente es de 36 células.

2.6.4.1.1. Género *Opisthioglyphe* Looss, 1899

Sinónimos: *Brachysaccus* Johnston, 1912; *Dolichosaccus* Johnston, 1912; *Lecithopyge* Perkins, 1928.

Especie tipo: *Opisthioglyphe (Distoma) endoloba* Dujardin, 1845.

El género *Brachysaccus* fue atribuido a dos especies de trematodos encontrados en ranas australianas: *Rana anatus* y *R. symmetricus*, por Johnston en 1912. Perkins (1928) aceptó el género pero se dio cuenta que existían diferencias con relación a *Dolichosaccus* ya que el útero era más grande y más diagonal con respecto a los testículos, pero Travassos (1930) fue más correcto al considerarlos como sinónimos de *Opisthioglyphe*. Perkins erróneamente excluyó estas especies de Telorchhiinae para incluirlas en el grupo de Psilostominae. Travassos transfirió dos especies: *Dolichosaccus juvenilis* Nicoll, 1918 y *D. amplicava* Travassos, 1924 al género *Opisthioglyphe*.

2.6.2.2.1.1. Especie *Opisthioglyphe endoloba* (Dujardin, 1845) Looss, 1899

Sinónimos.

- Dawes (1968) y Yamaguti (1979) consideran a *Opisthioglyphe endoloba* (Dujardin, 1845) Looss, 1899 como un sinónimo de la especie *Opisthioglyphe ranae* además de *Fasciola ranae* Frölich, 1791; *Distoma endolobum* Dujardin, 1845; *D. retusum* Beneden, 1861; *Monostomum hystrix* Molin, 1861; *O. hystrix* Kossack, 1910 y Travassos, 1930.
- Lluch, Roca y Navarro (1986) siguiendo a los mejores especialistas en este campo (Grabda-Kazubska, Combes y Cordero del Campillo) piensan que existen dos especies europeas, *O. ranae* y *O. endoloba*, y que la forma ibérica corresponde a la especie *O. endoloba*.

Hospedadores: *Bombina* sp., *Bufo bufo*, *B. calamita*, *B. variabilis*, *B. vulgaris*, *Hyla* sp., *Molge* sp., *Natrix maura*, *Rana esculenta*, *R. iberica*, *R. perezii*, *R. ridibunda*, *R. temporaria*, *Salamandra* sp. y *Triturus* sp.

Localización: Intestino delgado.

Distribución: África, Asia Central y Europa.

Su presencia en la Península Ibérica había sido señalada con anterioridad por:

- Combes y Knoepffer (1965) en *B. bufo gredosicola* y *R. iberica* de Ávila (Sierra de Gredos).
- Combes y Gerbeaux (1970) en *R. perezii* de Gerona (Segre e Isobol).
- Lluch y Roca y Navarro (1986) en *R. perezii* de Alicante (Orcheta) y Levante.
- Navarro y col. (1987) en *R. ibérica* del Oeste del Sistema Central (Salamanca, Cáceres y Ávila).

Ciclo biológico.

Según recoge Yamaguti (1975), el hospedador intermediario más favorable es *Lymnaea* (caracol) y los renacuajos pueden actuar como segundo hospedador intermediario.

Los huevos eclosionan en el agua y el miracidio libre penetra en el caracol y se instala en las glándulas digestivas, donde evolucionan a esporocisto y a xifidocercaria. La cercaria, según Komiya (1938), tiene seis pares de glándulas-estiletos de penetración, pero Dobrovolskii (1965) encontró de seis a siete glándulas a cada lado de la línea media. El cuerpo es más largo que la cola y el sistema excretor tiene un patrón de los solenocitos típicamente ordenado y vesícula en forma de "Y", con el principal conducto colector abierto en la punta de los brazos. Se han encontrado cercarias enquistadas en el caracol, en larvas acuáticas de insectos, en renacuajos y en ranas adultas. Según Grabda-Kazubska (1969), cuando las cercarias invaden renacuajos penetran por cualquier parte del cuerpo: por la epidermis, por la boca o por las branquias. Si penetran por la piel se enquistan en la región bucofaríngea hasta la metamorfosis pero si entran por las branquias pasan hasta el intestino, se disuelve la pared del quiste y se convierten en adultos. En las ranas, normalmente las cercarias se deslizan sobre su piel y rara vez penetran en ella. Suelen entrar por la boca o la nariz, pasan a la cavidad bucal y se enquistan allí, en áreas adyacentes o en el esófago. Las cercarias enquistadas en estas áreas se liberan, pasan al intestino, se desenquistan y continúan su desarrollo.

2.7. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE NEMATODOS

Según las claves de la C.A.B. (Petter y Quentin, 1976) y Anderson (1992) los nematodos encontrados en nuestros ejemplares quedan incluidos en los siguientes grupos:

Filo NEMATHELMINTHES

Clase NEMATODA

1. Subclase Secernentea

1.1. Orden Ascaridida

1.1.1. Superfamilia Cosmoceroidea

1.1.1.1. Familia Cosmocercidae

1.1.1.1.1. Subfamilia Cosmocercinae

1.1.1.1.1.1. Género *Cosmocerca*

1.1.1.1.1.1.1. Especie *Cosmocerca ornata*

1.2. Orden Rhabditida

1.2.1. Superfamilia Rhabditoidea

1.2.1.1. Familia Rhabdiasidae

1.2.1.1.1. Género *Rhabdias*

1.2.1.1.1.1. Especie *Rhabdias bufonis*

1.3. Orden Spirurida

1.3.1. Suborden Spirurina

1.3.1.1. Superfamilia Filarioidea

1.3.1.1.1. Familia Onchocercidae

1.3.1.1.1.1. Subfamilia Icosiellinae

1.3.1.1.1.1.1. Género *Icosiella*

1.3.1.1.1.1.1.1. Especie *Icosiella neglecta*

2. Subclase Adenophorea

2.1. Orden Enoplida

2.1.1. Superfamilia Trichinelloidea

2.1.1.1. Familia Trichuridae

2.1.1.1.1. Subfamilia Capillariinae

2.1.1.1.1.1. Género *Capillaria*

2.1.1.1.1.1.1. Especie *Capillaria costacruzi*

2.7.1. FAMILIA COSMOCERCIDAE (RAILLIET, 1916) TRAVASSOS, 1925

La superfamilia Cosmoceroidea es el representante más primitivo de la línea de evolución Ascaridida-Spirurida. Según Chabaud (1974) se cree que esta superfamilia sea un primer estado en la evolución de los parásitos secernenteos, posiblemente los ancestros de los rabditoides de vida libre. Dentro de ella, es probable que esta familia sea la menos evolucionada y la más primitiva.

Railliet y Henry (1916) establecen dos subfamilias, Cosmocercinae y Oxysomatiinae, en la familia Oxyuridae y en 1919, Travassos presentó la primera clasificación de Oxyurata. Introdujo a las subfamilias Oxysomatiinae, Syphaciinae y Oxyurinae en la familia Oxyuridae, pero no a Cosmocercinae, estableciendo la familia Cosmocercidae en 1925. Yorke y Maplestone (1926) reducen de nuevo Cosmocercidae a subfamilia y la vuelven a incluir en la familia Oxyuridae junto con las otras tres subfamilias.

Travassos (1930, 1931) estableció la superfamilia Subuluroidea con las familias: Cosmocercidae, Subuluridae, Heterakidae, Kathlaniidae y Cruzeidae. Considera un error dividir la familia Cosmocercidae en dos subfamilias: Cosmocercinae y Oxysomatiinae, con lo que Yorke y Maplestone estaban de acuerdo. Travassos pensó que la presencia o ausencia de un gubernáculo no justifica el establecimiento de estas subfamilias.

Chitwood y Chitwood (1937), por alguna incomprensible razón, transfieren la familia Cosmocercidae de la superfamilia Oxyuroidea a la Ascaroidea (de Oxyurata a Ascaridata). Para esto se basaron en la estructura de los elementos bucales y las papilas cefálicas pero ignoraron un órgano específico del suborden Oxyurata como es el bulbo esofágico.

Ballesteros-Márquez (1945) sólo considera dos subfamilias: Cosmocercinae y Oxysomatiinae. Cambia la diagnosis de la familia Cosmocercidae y la coloca en la superfamilia Subuluroidea.

Según López-Neyra (1947) la familia Cosmocercidae pertenece al suborden Subuluroidea Travassos, 1930, orden Subuluroidea Travassos, 1930 y la divide en dos subfamilias: Cosmocercinae y Oxysomatinae. Esta familia se relaciona con los Heterakidae por medio de la subfamilia Spinicaudinae, de la que se diferencia claramente porque los machos carecen de ventosa precloacal y no tienen un especial desarrollo de los músculos precloacales oblicuos que se manifiestan en aquellos, siendo enlace a su vez de los Oxyuroidea, de los que se distinguen por su aparato copulador biespicular.

Skrjabin y Shikhobalova (1951) crearon nuevas subfamilias y establecieron que la familia Cosmocercidae debía dividirse en: Cosmocercinae Railliet, 1916, Oxysomatiinae Railliet, 1916, Amblyonematinae Skrjabin y Shikhobalova, 1951, Probstmayriinae Skrjabin y Shikhobalova, 1951, Alaplectaninae Skrjabin y Shikhobalova, 1951, Syphaciellinae Skrjabin y Shikhobalova, 1951, Schrankiinae Skrjabin y Shikhobalova, 1951 y Lauroiinae Skrjabin y Shikhobalova, 1951. Sing (1958) estableció una nueva subfamilia Velariocephalinae.

Yamaguti (1961) no contempla la familia Cosmocercidae sino que considera la familia Oxyuridae Cobbold, 1864 dentro del orden Oxyurida Weinland, 1858. A su vez,

esta familia incluye a las dos subfamilias que citaba López-Neyra en la familia Cosmocercidae, más la subfamilia Oxyurinae Hall, 1916.

Baker (1987) propone tres subfamilias, cuyas especies son parásitas principalmente de anfibios y reptiles: Cosmocercinae, Austraplectaninae y Maxvachoniinae. La subfamilia Gyrinicolinae Yamaguti, 1938, de renacuajos se considera ahora perteneciente a la familia Oxyuroidea (Adamson, 1981).

Según Anderson (1992) la única subfamilia de la familia Cosmocercidae es Cosmocercinae y se encuentra principalmente en anfibios.

2.7.1.1. SUBFAMILIA COSMOCERCINAE RAILLIET Y HENRY, 1916

Sinónimos: Oxyascaridinae Freitas, 1958; Baker y Vaucher, 1985.

Género tipo: *Cosmocerca* Diesing, 1861.

Es la única subfamilia de la familia Cosmocercidae.

Según Baker (1982) a esta subfamilia pertenecen los géneros: *Aplectana*, *Cosmocerca*, *Cosmocercella*, *Cosmocercoides*, *Oxysomatium* y *Raillietnema*. También afirma que especies de esta subfamilia han sido citadas en los tres órdenes de anfibios (Anura, Urodela y Apoda), en reptiles y más raramente en peces de agua dulce y moluscos terrestres. Sin embargo, la mayoría de las citas son de anuros y es probable que la subfamilia se desarrolle en este grupo. La única excepción es el género *Raillietnema*, donde casi la mitad de las especies se dan en reptiles, aunque se puede considerar como una especiación después del establecimiento de este género. La mayoría de las especies son poco específicas. Por ejemplo *Aplectana macintoshii* se ha citada de seis familias de ranas, una de lagartos y otra de serpientes. Sólo hay una cita de cosmocercoides en un gran grupo de ranas primitivas, Pipidae. Esto puede ser debido a que Cosmocercinae se haya adaptado a la transmisión en condiciones terrestres y la mayoría de los pípidos en estado adulto viven en el agua (por ejemplo *Xenopus*). Esta misma barrera ecológica también puede explicar la escasa frecuencia de cosmocercoides en peces de agua dulce y el echo de que sólo hay una cita en renacuajos.

En 1992, Anderson redujo la subfamilia a tres géneros: *Aplectana* Railliet y Henry, 1916, *Cosmocerca* Diesing, 1861 y *Cosmocercoides* Wilkie, 1930.

En esta subfamilia, las especies son de pequeño tamaño y con manifiesto dimorfismo sexual. La boca tiene tres labios pequeños. Los machos poseen dos o cuatro filas de ornamentaciones características en forma de placas, que se encuentran en la superficie ventral. Las espículas son iguales y el gubernáculo puede estar presente o ausente. Las hembras tienen la vulva cerca de la mitad del cuerpo y son prodelíficas, vivíparas u ovíparas. Son parásitos de anfibios y moluscos terrestres.

La información sobre el ciclo de vida en esta subfamilia sólo ha sido posible en dos especies (ambas monoxenas). *Cosmocercoides dukae* ha sido transmitida experimentalmente a una rana adulta por penetración a través de la piel y *Aplectana courdurieri*, a renacuajos por ingestión de larvas infestantes (Baker, 1982).

2.7.1.1.1. Género *Cosmocerca* Diesing, 1861

Sinónimos: *Nematoxys* Scheider, 1866; *Ananconus* Railliet y Henry, 1916; *Paracosmocerca* Kung y Wu, 1945; *Parasomatium* Islam, Farooq y Khanum, 1979.

Especie tipo: *C. longicaudata* (Linstow, 1885) Railliet y Henry, 1916 (sinónimo *C. trispinosa* Railliet y Henry, 1916).

De acuerdo con lo mencionado por Baker en 1987, el género *Cosmocerca* incluye un total de 15 especies de parásitos anuros procedentes de todos los continentes.

2.7.1.1.1.1. Especie *Cosmocerca ornata* (Dujardin, 1845) Railliet y Henry, 1916

Sinónimos: *Oxyuris ornata* Dujardin, 1845; Walter, 1856; Diesing, 1861; *Nematoxys ornatus* (Dujardin, 1845) Schneider, 1866; *Ananconus commutatus* Railliet and Henry, 1916; *Ascaris conmutata* Claparède, 1859; Schneider, 1866; *Cosmocerca minuscule* Travassos, 1931; *Paracosmocerca mucronata* Kung y Wu, 1945; *Cosmocella polissensis* Maguza, 1972; *Cosmocerca indica* Nama y Khichi, 1973; *Paracosmocerca spinocerca* Rao, 1979; *Cosmocerca macrogubernaculum* Rao, 1979.

Hospedadores: *Anguis fragilis*, *Bombina bombina*, *B. variegata*, *Bufo bufo*, *B. bufo asiaticus*, *B. garmani*, *B. gutturalis*, *B. maculatus*, *B. melanostictus*, *B. rangeri*, *B. regularis*, *B. viridis*, *B. vulgaris*, *Cacosternum namaquense*, *Capensibufo rosei*, *Hyla arborea*, *H. meridionalis*, *Kaloula pulchra*, *Kassina senegalensis*, *Leptobranchium hasselitti*, *Microhyla ornata*, *Natrix natrix*, *Pelobates fuscus*, *Petropedetes natator*, *Polypedates leucomystax*, *Ptychadena anchietae*, *P. porosissima*, *Rana agilis*, *R. amurensis*, *R. arvalis*, *R. cyanophlyctis*, *R. dalmatina*, *R. erythraea*, *R. esculenta*, *R. guentheri*, *R. ibérica*, *R. limnocharis*, *R. mascareniensis*, *R. nigromaculata*, *R. nitida*, *R. perezi*, *R. ridibunda*, *R. temporaria*, *Stephanopaaedes anotis*, *Triturus alpestris*, *T. cristatus*, *T. vulgaris* y *Xenopus fraseri*.

Localización: Intestino grueso (ampolla rectal).

Distribución: Regiones Paleártica y Etiópica y en zonas tropicales.

En la Península Ibérica ha sido mencionada con anterioridad por:

- Ballesteros (1945) en *R. esculenta* (posiblemente se trate de *R. perezi* ya que *R. esculenta* no se encuentra en la Península Ibérica) y *R. temporaria* de Málaga (Carratraca).
- López-Neyra (1947) en *R. esculenta* (posiblemente sea *R. perezi*) y *R. temporaria* de Granada y Madrid.
- Combes y Gerbeaux (1970) en *R. perezi* de Gerona (Segre e Isobol).
- Combes y Sarrouy (1971) en *R. perezi* de Soria.
- Oliveira-Rodrigues y col. (1973) en *R. esculenta* (posiblemente sea *R. perezi*) de Portugal (Coimbra).
- Carrera-Moro (1984) en *R. perezi* e *Hyla meridionalis* de las Islas Canarias (Tenerife, Gomera).

- Navarro y col. (1986) en *R. temporaria* del Prepirineo Catalán
- Navarro y col. (1987) en *R. iberica* de la región Occidental del Sistema Central (Salamanca, Cáceres y Ávila).
- Navarro y col. (1988) en *R. iberica* de la región Occidental del Sistema Central, *R. temporaria* del Prepirineo y Pirineo Oriental y del Pirineo Central y en *R. perezii* de la región Occidental del Sistema Central, Pirineo Central y Levante ibérico.
- Izquierdo-Gómez (1987) en herpetos de Alicante.
- Lluch (1990) en *R. temporaria* del Pirineo Central (Aragón) y Oriental (Catalán).
- Lluch (1990) en *R. perezii* del Pirineo Central (Aragón).
- Galeano y Navarro (1991) en *Natrix maura* de la porción septentrional del Sistema Ibérico.

Según Moravec (1990), la especie *C. ornata*, un parásito muy común de anuros en Europa, fue citada por primera vez en el continente africano por Baylis (1923) en una rana de Egipto. Más tarde, la misma especie fue encontrada en Sierra Leona (Puylaert 1970), Sudáfrica (Baker, 1981), Alto Volta (Baker y Vaucher, 1984) y Egipto (Moravec y col., 1987) y probablemente también se encontraron *Cosmocerca* sp. en *Rana* (*Ptychadena*) *mascareniensis* y *Bufo* spp. de Sudán (Pike, 1979). Baker y Vaucher (1984) afirman que *C. ornata* se encuentra en varias regiones zoogeográficas del viejo mundo (Europa, África, India, Malasia y China) y también en Paraguay.

Sin embargo, Moravec opina que las descripciones de estas especies sudamericanas muestran que existen diferencias morfométricas con las de Europa y en su opinión no cree que estos ejemplares americanos pertenezcan a *C. ornata* sino que propone una nueva especie *C. uruguayensis* Moravec y Barus, 1990 (hoy en día reemplazada por *C. paraguayensis* para las especies anteriores mencionadas, mientras que *C. uruguayensis* hace referencia a las especies sudamericanas de *C. commutata*).

La morfología de los ejemplares de Zambia y Uganda que recogió es prácticamente idéntica a la de los ejemplares de *Bufo regularis* y *Rana* spp. de Egipto, recogidos por Moravec y col. (1987) como *C. ornata*. Pero en comparación con los ejemplares de ranas y sapos de Europa, los nematodos africanos son sustancialmente más pequeños (longitud del cuerpo de la hembra grávida 2,2-5,6 mm comparada a 4,4-10,3 mm en las europeas) y también existen otras ligeras diferencias morfométricas entre ellos. Además, estas características de los ejemplares africanos son indistinguibles de la especie asiática *C. japonica* Yamaguti, 1938, la cual fue considerada como una posible subespecie por Moravec y Sey (1985); *C. japonica* ha sido citada en Japón, China, Vietnam y Oceanía. Por lo tanto, Moravec (1990) considera dos subespecies de la especie *C. ornata*:

- *C. ornata ornata* Dujardin, 1845 en ranas y sapos de zonas templadas de Europa.
- *C. ornata japonica* Yamaguti, 1938 en regiones tropicales y subtropicales de Asia y África (nematodos designados como *C. japonica* Yamaguti, 1938 y los ejemplares africanos de *C. ornata* de Egipto, Zambia y Uganda).

2.7.2. FAMILIA RHABDIASIDAE RAILLIET, 1915

Sinónimos: Angiostomatidae Braun, 1895.

Género tipo: *Rhabdias* Stiles y Hassall, 1905.

Según López-Neyra (1947) la familia Rhabdiasidae pertenece al orden Rhabdiasata (Railliet, 1916) Cram, 1927 y de acuerdo con Travassos la divide en dos subfamilias: Rhabdiasinae Travassos, 1930 y Strongyloidinae Travassos, 1930. Pero Yamaguti (1961) considera a esta familia dentro de un nuevo orden, Rhabdiasidea Railliet, 1916.

Anderson y Bain en 1982 incluyen a esta familia en el orden Rhabditida, superfamilia Rhabditoidea. Esta superfamilia incluye especies saprofitas de vida libre, raramente asociadas con vertebrados y especies que son parásitos verdaderos. Se divide en seis familias:

- Rhabditidae y Cephalobidae que contienen especies de vida libre.
- Cylindrocorporidae incluye ambos tipos: especies de vida libre y especies parásitas.
- Angiostomatidae que sólo tiene especies parásitas de anfibios y gasterópodos terrestres.
- Rhabdiasidae y Strongyloidae que son exclusivamente parásitos de vertebrados y ambas familias son heterogónicas.

Según Baker (1978, 1979, 1980) los miembros de la familia Rhabdiasidae son parásitos heterogónicos del pulmón de anfibios y reptiles de todo el mundo. Las formas parásitas son hermafroditas y muy diferentes de la generación de vida libre. Consta de los géneros: *Acanthorhabdias* Pereira, 1927, *Entomelas* Travassos, 1930, *Pneumonemas* Johnston, 1916 y *Rhabdias* Stiles y Hassall, 1905. Anderson (1992) sólo incluye tres géneros en la familia: *Entomelas* Travassos, 1930, *Pneumonemas* Johnston, 1916 y *Rhabdias* Stiles y Hassall, 1905.

Los nematodos parásitos de la familia Rhabdiasidae pueden haber evolucionado de los rhabditidos de vida libre. Todos ellos son heterogónicos. Las formas parásitas no se diferencian en hembras y machos, son hermafroditas o partenogenéticas. Las formas libres pueden o no presentar diferenciación sexual antes de alcanzar el estado infestante. Son parásitos de anfibios y reptiles.

2.7.2.1. Género *Rhabdias* Stiles y Hassall, 1905

Sinónimos: *Ascaris* L.; *Ophiorhabdias* Yamaguti, 1943; *Angiostoma* Dujardin, 1845; *Leptodera* Scheneider, 1866; Dujardin, 1845; *Rhabdonema* Leuckart, 1879; *Shorttia* Singh y Ratnamala, 1977.

Especie tipo: *R. bufonis* (Schrunk, 1788) Stiles y Hassall, 1905.

Este género es cosmopolita y se encuentra en varias familias de anfibios y reptiles. Aunque los anuros de la familia Ranidae y Bufonidae y serpientes de la familia Colubridae son los grupos de hospedadores más importantes. Hay aproximadamente

30-40 especies de *Rhabdias* aunque la mayoría de las especies no han sido descritas adecuadamente pues el género, en general, tiene pocas características específicas fácilmente observables (Baker, 1978).

Anderson (1992), Metchnikoff (1865, 1866) y Leuckart (1865) descubrieron que los huevos de *R. bufonis* pasaban a las heces del sapo hospedador, eclosionaban y las larvas producían generaciones de adultos de vida libre con características morfológicas de Rhabditidae de vida libre. Estos autores creyeron que los parásitos adultos eran partenogenéticos pero estudios posteriores mostraron que el parásito es hermafrodita. Los huevos depositados en el pulmón, por el parásito, pasan al sistema respiratorio, son deglutidos y terminan definitivamente en las heces del hospedador. El primer estado larvario que sale del huevo es rhabditiforme. En algunas especies (por ejemplo *R. fuscovenosa* de serpientes) el primer estado larvario se desarrolla directamente a un segundo y después a un tercer estado larvario infestante, en un proceso que se conoce como desarrollo homogónico. Otras especies (por ejemplo *R. bufonis*, *R. ranae*, *R. americanus*, *R. brachylaimus*, *R. multiproles*) tienen estados heterogónicos de vida libre en cuya reproducción se originan las larvas infestantes. Ambos desarrollos, homogónico y heterogónico, pueden darse en la misma especie aunque uno suele predominar. En el heterogónico, el desarrollo del estado adulto en el medio externo es extremadamente rápido. Los adultos son típicamente rhabditiformes en su morfología. Las hembras son anfidelfas y producen pocos huevos de gran tamaño, los cuales se desarrollan hasta el tercer estado larvario envainado e infestante. La hembra entonces muere, las larvas se comen sus órganos internos, llegan hasta la cutícula materna, la rompen y quedan libres. Este proceso, conocido como endotoquia matricial es común entre los rhabditidos de vida libre.

Las larvas infestantes de *R. americanus* y *R. ranae* y presumiblemente otras especies de *Rhabdias*, infestan al hospedador al penetrar por la piel. Las especies, en reptiles, es posible que infesten al hospedador oralmente, aunque todavía no ha sido establecido firmemente. Las larvas que penetran a través de la piel del anfibio pierden su vaina durante el proceso. Estas larvas emigran, durante un periodo de varios días, a la cavidad corporal del hospedador donde crecen más tarde a tercer y cuarto estado larvario y a estado subadulto del parásito hermafrodita. Estos subadultos deben invadir los pulmones para madurar y producir huevos. Es frecuente encontrar hermafroditas maduros en los pulmones de ranas y sapos capturados con numerosos subadultos en la cavidad corporal. Normalmente no se han encontrado, en los pulmones de anfibios capturados, un número masivo de gusanos. Es posible que exista una regulación en el número de nematodos que invaden los pulmones reteniendo a los subadultos en la cavidad corporal.

No se han encontrado *Rhabdias* en renacuajos de vida libre, debido a una base ecológica más que fisiológica.

El posible papel del hospedador paraténico en la transmisión de especies de *Rhabdias* no ha sido dilucidado totalmente aunque larvas infestantes de *R. bufonis* y *R. americanus* invaden y sobreviven en tejidos de caracoles (Fülleborn, 1928; Baker, 1979).

2.7.2.1.1. Especie *Rhabdias bufonis* (Schrunk, 1788) Stiles y Hassall, 1905

Sinónimos: *Ascaris bufonis* Schrunk, 1788; *A. nigrovenosa* (Goeze) Zeder, 1800; *Fusaria nigrovenosa* Zeder, 1800; *Leptodera nigrovenosa* Schneider, 1866; *Rhabdonema* Leuckart 1879; *Angiostoma nigrovenosa* Linstow, 1882; *Rhabdias microoris* Semenov, 1929.

Hospedador: *Bombina bombina*, *Bufo bufo*, *B. calamitas*, *B. orientalis*, *B. regularis*, *B. viridis*, *B. vulgaris*, *Hyla arborea*, *Rana arvalis*, *R. dalmatina*, *R. esculenta*, *R. ibérica*, *R. perezi*, *R. ridibunda*, *R. temporaria* y *Pelobates fuscus*.

Localización: Pulmón.

Distribución: Asia Central, Egipto y Europa.

R. bufonis ha sido citada en toda Eurasia y América del Norte, pero Baker (1978) indicó que realmente sólo ha sido informado en Europa. La especie se desarrolla en un amplio rango de hospedadores en Europa Occidental y probablemente también en Eurasia.

Su presencia en la Península Ibérica había sido señalada con anterioridad por:

- López-Neyra (1947) en *R. esculenta* (posiblemente sea *R. perezi*) de Granada.
- Combes y Gerbeaux (1970) en *R. perezi* de Gerona (Segre e Isobol).
- Oliveira-Rodrigues y col. (1973) en *R. esculenta* (posiblemente sea *R. perezi*) de Portugal (Coimbra).
- Fernández, P. (1984) en *Bufo* sp. de Valencia.
- Navarro (1985) en *Natrix maura* de Valencia.
- Navarro y col. (1987) en *R. ibérica* del Oeste del Sistema Central (Salamanca, Cáceres y Ávila).
- Izquierdo-Gómez (1987) en herpetos de Alicante.
- Lluch (1990) en *R. temporaria* del Pirineo Aragonés y Catalán.
- Lluch (1990) en *R. perezi* del Pirineo Central (Aragón).
- Galeano y Navarro (1991) en *Natrix maura* de la porción septentrional del Sistema Ibérico.

Ciclo biológico.

Según Cheng (1976), *R. bufonis* presenta dos generaciones sexuales: un estado hermafrodita protándrico durante la fase parásita y un estado dioico en la fase de vida libre. La fase que se encuentra en el pulmón de las ranas es la hermafrodita: los testículos se desarrollan antes que el ovario y los espermatozoides producidos se almacenan en un receptáculo seminal donde permanecen hasta que el ovario se desarrolla y de lugar a los óvulos. Después de la fertilización, los cigotos se encapsulan en el interior de huevos individuales. Estos huevos son expulsados de los bronquios del hospedador mediante accesos de tos, llegando a la cavidad bucal donde se ingieren. Cuando llega al aparato digestivo de la rana nace la larva rabaditiforme, que emigra hacia la parte posterior, se concentra en la cloaca y sale al exterior, en las heces. La larva madura dando lugar a hembras y machos adultos que habitan en el suelo (generación dioica). Después de la cópula, las hembras originan larvas ovovivíparas filariformes, que permanecen en el interior de la madre y se alimentan de sus tejidos hasta que la destruyen y quedan libres

bajo la forma de larva envainada. La infección de la rana tiene lugar cuando esta larva penetra a través de la piel del hospedador y es transportada por el sistema linfático a diversos órganos. Sólo las larvas que alcanzan el pulmón son capaces de repetir el ciclo. Algunos caracoles pueden servir como hospedadores intermediarios de *R. bufonis*.

Según Spieler y Schierenberg, 1995, tiene un ciclo heterogónico alternando entre generación gonocórica (de vida libre) y hermafrodita (parásita). Los huevos del parásito adulto se desarrollan fuera del hospedador, en hembras y machos de vida libre. Después de eclosionar éstos, pasan por cuatro estados larvarios (L1-L4) antes de alcanzar el estado adulto. Las hembras producen huevos que representan la nueva generación parásita. Estos huevos se desarrollan dentro de la madre hasta el estado infestante de L3 antes de que escapen y penetren posteriormente por la piel de un anfibio. La larva migra al pulmón del hospedador y se desarrolla hasta llegar al estado de adulto.

2.7.3. FAMILIA ONCHOCERCIDAE LEIPER, 1911

Sinónimos: Dipetalonematidae Wehr, 1935; Setariidae Yorke y Maplestone, 1926 subfam.

La familia Onchocercidae junto con la familia Filariidae, están incluidas en la superfamilia Filarioidea dentro del suborden Spirurina (Anderson y Bain, 1976). En la primera familia están incluidas dos subfamilias y en la segunda, ocho.

López-Neyra (1947) sigue la propuesta de Skrjabin y Schikhobalova (1937) de dar valor de suborden a la familia Filariidae (Cobbold, 1864) Claus, 1885, ya que varias de las subfamilias diferenciadas por ellos alcanzan la categoría de familia, entre ellas: Setariinae Yorke y Maplestone, 1926, Onchocercinae Leiper, 1911 y Filariinae Stiles, 1907.

Sin embargo, Yamaguti (1961) no considera ni a esta familia, ni a este suborden, sino que crea un nuevo orden, Filarioidea para reunir a tres familias: Stephanofilariidae Wehr, 1935, Dipetalonematidae Wehr, 1935 y Filariidae Claus, 1885. Dentro de la familia Filariidae se encuentran las subfamilias: Filariinae Stiles, 1907 (con el género *Icosiella*) y Dicheilonematinae Wehr, 1935.

Sonin (1975) no considera ni la superfamilia Filarioidea ni la familia Onchocercidae. Este autor encuadra el género *Icosiella* en la familia Oswaldofilariidae (Chabaud y Choquet, 1953) Sonin, 1966, superfamilia Diplotriaenoidea (Skrjabin, 1915) Sonin, 1962-1963.

Según Anderson y Bain (1976) en las claves de la C.A.B. y Anderson (1992), la familia Onchocercidae incluye una gran diversidad de nematodos. A diferencia de la familia Filariidae, los estados larvarios se encuentran generalmente en el hospedador definitivo lejos del sitio de origen de las hembras grávidas. La vulva, normalmente, se localiza en la parte anterior del cuerpo, posición que facilita la oviposición. La microfilaria desarrollada de los oncocercidos puede alimentarse de las vísceras del hospedador definitivo y extenderse a través de los tejidos de toda clase de vertebrados.

También se dan larvas semejantes a microfilarias en algunos Filariidae pero es sólo en los Onchocercidae donde éstas han alcanzado su completo potencial como elemento en la transmisión de un mayor grupo de nematodos. Por lo tanto, los oncocercidos han sido encontrados en todos los órganos del cuerpo y en la mayor parte de los tejidos. Cada especie tiene un sitio preferente en el hospedador en que vive y uno de los misterios es cómo las especies se las arreglan para encontrar la localización más específica en el cuerpo. Las microfilarias viven en la sangre o en la piel, donde son accesibles a un vector hematófago. Dividen la familia en ocho subfamilias:

- Oswaldofilariinae que está limitada a especies de reptiles.
- Icosiellinae y Waltonellinae, en anfibios.
- Setariinae engloba especies de mamíferos superiores.
- Dirofilariinae y Onchocercinae contienen principalmente parásitos de mamíferos aunque unos pocos géneros se encuentran en reptiles y aves.
- Splendidofilariinae y Lemdaninae, con parásitos de aves, reptiles y mamíferos; la mayoría de las filarias de aves están en estas dos subfamilias.

Manson (1878) estudió el desarrollo y transmisión de la especie *Wuchereria bancrofti* y vio que el artrópodo succionaba las microfilarias junto con la sangre del hospedador. Más tarde, las microfilarias se desenvainaban, penetraban por la pared del intestino, migraban al hemocele y se desarrollaban en forma de larvas infestantes en ciertos tejidos. Posteriormente se estudiaron otras especies y en aquellas estudiadas que precisaban un hospedador intermediario para su desarrollo, se vio que, alrededor de 32 se desarrollaban en el tejido graso, 26 en el músculo, 8 en el hemocele y 7 en los tubos de Malpigio. Generalmente, especies del mismo género se desarrollan en localizaciones similares del artrópodo. En el hospedador intermediario las microfilarias de la mayoría de las especies engrosan y se acortan en el llamado estado de salchicha. El segundo estado larvario es largo y fino y posteriormente muda al tercer estado larvario infestante. Después de un corto periodo de crecimiento adicional, del hemocele migra a la cabeza y a los aparatos bucales del artrópodo. Cuando este díptero se alimenta, la trompa se dobla, la larva rompe la trompa y reptas sobre la superficie de la piel del hospedador definitivo. Si las condiciones de humedad son satisfactorias, la larva sobrevive, entra por la picadura del vector e invade los tejidos del hospedador.

2.7.3.1. SUBFAMILIA ICOSIELLINEAE ANDERSON, 1958

Género tipo y único: *Icosiella* Seurat, 1917.

Anderson (1958) estableció esta subfamilia con el único género *Icosiella*, un parásito de anfibios. Colocó esta subfamilia en la familia Dipetalonematidae Wehr, 1935, la cual contenía parásitos de anfibios, reptiles, peces y mamíferos.

Sonin (1962-1963, 1966) reconoció la separación del género *Icosiella* en esta subfamilia pero dentro de la familia Oswaldofilariidae, asumiendo que las especies de las subfamilias Icosiellinae Anderson, 1958 y Oswaldofilariinae Chabaud y Choquet, 1953, son el grupo casi más primitivo de los vivíparos Filariata.

Anderson y Bain (1976) en las claves de la C.A.B. y Anderson (1992) transfieren la subfamilia Icosiellinae a la familia Onchocercidae, con un único género, *Icosiella* Seurat, 1917.

Los nematodos de esta subfamilia presentan cuatro espinas cefálicas salientes y cuatro papilas cefálicas grandes y lisas. El esófago se divide en parte anterior muscular corta y parte glandular larga. La vulva está situada ligeramente por detrás de la unión de las dos partes del esófago, en la parte anterior del cuerpo. Las espículas son muy diferentes en tamaño y morfología y las papilas caudales son pequeñas o no existen. La cloaca y el ano son subterminales. Las alas caudales están ausentes. Son vivíparos. Las microfilarias (larvas infestantes) poseen una vaina, dos espinas cefálicas medianas, un esófago glandular largo y una cola corta y roma. Son parásitos de anfibios.

2.7.3.1.1. Género *Icosiella* Seurat, 1917

Especie tipo: *I. neglecta* (Diesing, 1851) Seurat, 1917

Seurat (1917) estaba de acuerdo con Railliet y estableció el nuevo género *Icosiella* con la única especie tipo *I. neglecta* Diesing, 1851. Seurat consideraba como principal característica del género la ornamentación de la terminación cefálica (con cuatro pequeños dientes), división del esófago en dos partes, espículas de diferente longitud y forma y que eran vivíparas. Posteriormente se añadieron más especies.

Yorke y Maplestone (1926) colocaron *Icosiella* en la subfamilia Setariinae. Skrjabin, Shikhobalova (1948) la transfirieron a la subfamilia Stephanofilariinae Skrjabin y Shikhobalova, 1945 (familia Setariidae), y de este modo colocó en esta subfamilia nematodos de mamíferos y anfibios, con lo que Chabaud y Choquet (1953) estaban de acuerdo. Sin embargo, López-Neyra (1947) considera a la familia Setariidae como subfamilia (Setariinae) donde sitúa a este género.

Por otra parte, Skrjabin y Shikhobalova (1961) vuelven a considerar a esta especie dentro de la subfamilia Icosiellinae, al igual que Anderson y Bain (1976) y Anderson (1992).

2.7.3.1.1.1. Especie *Icosiella neglecta* (Diesing, 1851) Seurat, 1917

Sinónimos: *Filaria ranae-esculentae* Rudolphi, 1819; *F. rubella* Rudolphi, 1819 sensu Nabias y Sabrazes, 1892; sensu Blanchard, 1895; sensu Porta, 1912; sensu Skrjabin, 1923; *F. neglecta* Diesing, 1851; *Microfilaria sanguinicola* Valentin, 1841; *Anguillula intestinalis* Valentin, 1841; *Foleyella helvetica* Kreis, 1934.

Hospedadores: *Bufo marinus*, *B. viridis*, *Discoglossus pictus*, *Hyla arborea*, *Leptodactylus* sp., *Rana esculenta*, *R. macrocnemis*, *R. nigromaculata*, *R. perezii*, *R. ridibunda*, *R. temporaria* y *R. tigrina*.

Localización: Tejido conjuntivo subcutáneo e intermuscular.

Distribución: Norte de África, América, Asia y Europa.

En la Península Ibérica ha sido mencionada con anterioridad por:

- López-Neyra (1947) en *R. esculenta* (posiblemente sea *R. perezí*) de Granada.
- Navarro y col. (1987) en *R. iberica* de la región Occidental del Sistema Central (Salamanca, Cáceres y Ávila).
- Lluch (1990) en *R. perezí* del Pirineo Central (Aragón).

Filaria neglecta fue descrita por Diesing en 1851 pero la primera mención de filarias en el tejido subcutáneo de ranas aparece en el catálogo del museo de Viena en 1811 (Westrumb, 1821). Rudolphi (1819) describe un nematodo largo y rojizo del estómago de *Rana temporaria* como *Filaria rubella*, a la que consideró posiblemente idéntica a la del museo de Viena. Valentin (1841) y Vogt (1842) encontraron microfilarias en la sangre de ranas. Dujardin (1845) estaba de acuerdo con Rudolphi (1819) e identificaron las microfilarias descritas por Valentin y Vogt como *F. rubella*. Diesing (1851) establece que *F. neglecta* parasita el tejido subcutáneo conectivo y *F. rubella* el estómago de ranas. Sin embargo, algunos autores (Nabias y Sabraze, 1892; Blanchard, 1895; Linstow, 1909; Porta, 1912) consideran que *F. neglecta* y *F. rubella* son idénticas. Railliet (1916) recalcó que considerar *F. neglecta* como sinónimo de *F. rubella* es un error y sugirió que *F. rubella* no pertenece al género *Filaria*.

Desportes (1941, 1942) mostró que el hospedador intermediario de *I. neglecta* en Francia era *Forcipomyia velox* y *Sycorax silacea* (mosquitos) que se alimentaban de la sangre de la cabeza de las ranas verdes (*Rana esculenta*). Después de la ingestión de la sangre, las microfilarias pierden su vaina al cabo de 19-29 horas y pasan del estómago a la cavidad corporal donde permanecen de tres a cuatro días, su longitud disminuye de 87 a 53 μm y su anchura aumenta de 8 a 17 μm . A continuación emigran a los músculos torácicos donde la larva crece, al 14°-16° día, empieza la diferenciación de los órganos y tiene lugar la primera muda. Después de 16-22 días, la larva incrementa su tamaño (a 0,52 por 0,033 mm) y termina la diferenciación interna de los órganos. Las larvas entonces emigran a la cabeza. Desportes no observó la segunda muda pero es probable que se produzca después de 20-21 días, justo antes de que la larva alcance el estado infestante. Las lesiones hechas por el mosquito eran necesarias aparentemente para permitir que las larvas infestantes entren en su hospedador definitivo.

También estableció que, de acuerdo con Brumpt (1906, citado por Desportes, 1941), *I. Neglecta* moría rápidamente en el vector *Helobdella algura*, *Hemiclepsis marginata*, *Haemopsis sanquisuga* e *Hirudo officinalis*. Los datos de Brumpt contradicen los de Porta (1912). Porta diseccionó dos ejemplares de *H. officinalis*, 70 días después de que hubieran ingerido la sangre de una rana infestada y encontró dos larvas de microfilarias en cada uno. Porta concluye que *H. officinalis* puede ser el hospedador intermediario de *I. neglecta*, pero Desportes no está de acuerdo.

Skrjabin (1968) está conforme con Desportes en que puede tener lugar un desarrollo larvario parcial de esta filaria en el invertebrado, pero no un estado infestante, que se da en el hospedador normal.

2.7.4. FAMILIA TRICHURIDAE RAILLIET, 1915

Sinónimos: Trichocephalidae Baird, 1853; Trichosomidae Leiper, 1912; Trichosomoididae Yorke y Maplestone, 1929.

Según López-Neyra (1947) esta familia pertenece al orden Trichiurata y se divide en dos subfamilias: Trichurinae Ransom, 1911 y Capillarinae Railliet, 1915. Sin embargo, Yamaguti (1961) crea un nuevo orden, Trichuridea en el que se encuentra la familia Trichuridae con las mismas subfamilias que menciona López-Neyra.

Anderson y Bain (1982) incluyen esta familia en la superfamilia Filarioidea, orden Enoplida, subclase Adenophorea. A esta familia pertenecen las dos subfamilias anteriores y Trichosomoidinae Hall, 1916.

2.7.4.1. SUBFAMILIA CAPILLARIINAE RAILLIET, 1915

Género tipo y único: *Capillaria* Zeder, 1800.

La clasificación de esta subfamilia es una de las más difíciles e insatisfactorias dentro de los nematodos. Hay más de 300 especies descritas de *Capillaria sensu lato* parasitando a un amplio rango de hospedadores. Se han desarrollado numerosos estudios con el fin de definir los géneros para esta gran cantidad de especies, pero ninguno de ellos ha sido bien recibido ni parecen biológicamente muy sólidos.

En 1800, Zeder aplicó el nombre de *Capillaria* (*capillus* = pelo) a un pequeño parásito nematodo filiforme. Algo más tarde, en 1819, Rudolphi los llamó *Trichosoma* (*trichos* = cabeza, *soma* = cuerpo). Dujardin (1845) dividió *Trichosoma* en varios géneros: *Calodium*, *Eucoleus*, *Liniscus*, *Thominx*, *Trichocephalus* y *Trichosomum*. Pero López-Neyra (1947) afirmó que estos géneros eran más bien subgéneros de *Trichosoma*. Debemos señalar que el género *Thominx* es mencionado por Dujardin, pero siempre con un signo de interrogación y en el género *Trichosoma* incluyó dos especies: *T. manica* y *T. tridens* de las cuales sólo conocía a los machos.

Diesing (1851) está de acuerdo, aunque con algunas modificaciones, con la división propuesta por Dujardin. Distribuye a los géneros en dos grupos y señala como género principal a *Trichocephalus* Goeze, 1782 y *Trichosoma* Rudolphi, 1819:

- Vaina espicular lisa: *Calodium*, *Liniscus* y *Trichosoma*.
- Vaina espicular espinosa: *Eucoleus*, *Thominx* y *Trichocephalus*.

En 1874 Linstow crea un nuevo género *Trichodes* para la especie *Trichosoma crassicauda*. Pero el nombre de *Trichodes* había sido ya usado para una forma de coleóptero (*Trichodes* Herbst, 1792) y Railliet propuso modificarlo y darle el nombre de *Trichosomoide* Railliet, 1895, el cual generalmente es más usado. Travassos (1915) unió de nuevo los cinco géneros en *Capillaria* Zeder, 1800 pero lo dividió en dos subgéneros: *Thominx* y *Capillaria* según tuviera la vaina espinosa o lisa respectivamente. En el mismo año, Railliet creó la familia Trichuridae con una subfamilia especial, Capillariinae Railliet, 1915 y un año más tarde, Hall crea un nuevo género *Hepaticola* por la peculiar localización de *Capillaria hepática* en el hígado.

Yorke y Maplestone (1926) dividen la familia Trichuridae en dos subfamilias: Trichurinae Ransom, 1911 y Capillariinae Railliet, 1915. Distinguen los siguientes géneros dentro de la subfamilia Capillariinae: *Capillaria*, *Hepaticola* y *Eucoleus* y en el género *Capillaria*, los subgéneros *Capillaria* y *Thominx*.

Baylis (1931) estudió la estructura y posición de *Hepaticola* y *Eucoleus* y concluyó que no se pueden distinguir y que, igualmente, no difieren de las especies de *Capillaria* por lo cual propuso que estos géneros fueran considerados sinónimos de ella, pero Sprehn (1932) se refirió a la subfamilia Capillariinae con los mismos tres géneros incluidos por Yorke y Maplestone.

En 1936, Neveu-Lemaire aislaron los capiláridos en una familia independiente Capillariidae conteniendo un único género *Capillaria* con los siete sinónimos siguientes: *Calodium*, *Eucoleus*, *Hepaticola*, *Liniscus*, *Thominx*, *Trichosoma* y *Trichosomum*.

Skrjabin (1939) estudió los capiláridos y restableció el género *Thominx*, que había sido creado por Dujardin y más tarde había sido relegado a un subgénero del género *Capillaria*. Skarbilovich (1946) creó un nuevo género *Skrjabinocapillaria*, reconoció la validez del género *Thominx* y consideró a *Eucoleus* como su sinónimo. Incluyó en la subfamilia Capillariinae tres géneros: *Capillaria*, *Skrjabinocapillaria* y *Eucoleus*.

En 1947, López-Neyra estableció dos nuevos géneros: *Aonchotheca* y *Echinocoleus* y volvió a considerar al género *Eucoleus*. Reconoció seis géneros: *Aonchotheca*, *Echinocoleus*, *Eucoleus*, *Capillaria*, *Capillostrongyloides* y *Trichosomoides*. Esta clasificación no fue considerada por los subsiguientes científicos por ser extremadamente difícil. Madsen (1951) no estaba de acuerdo con la división de los géneros de López-Neyra por la longitud del esófago y la presencia o ausencia de espinas en la vaina espicular. Sin embargo, Skrjabin y col. (1957) sí considera válida la división de los géneros por su vaina espicular. También pensó que no se podían ignorar los estudios de Pavlov (1955) sobre la biología de *Hepaticola hepática* (Bancroft, 1893) Hall, 1916 y consideró como válido a este género y lo incluyó en la familia Capillariidae junto con: *Capillaria*, *Eucoleus*, *Skrjabinocapillaria* y *Thominx*.

Yamaguti (1961) opina que el único representante de la subfamilia en los anfibios es el género *Capillaria*.

Anderson y Bain (1982), se dieron cuenta de la confusión que existía en la clasificación de la subfamilia y propusieron como sinónimos de *Capillaria* los cuatro géneros de Skrjabin y col. (1957) junto con otros dieciséis que habían sido propuestos hasta 1978, pues no estaban de acuerdo con las características que habían sido utilizadas para definir los géneros (por ejemplo espícula presente o ausente, vaina con o sin espinas, etc.).

Moravec (1982) también reconoció que la subfamilia se encontraba en un gran estado de confusión y propuso provisionalmente seis géneros y cinco subgéneros a los que les asignó una descripción y una clave. Estableció un nuevo subgénero *Amphibiocapillaria* en el género *Schulmanella* para acomodar a algunos parásitos de anfibios, pero más tarde, Moravec, en 1986, lo elevó al rango de género e introdujo dos especies de reptiles.

Moravec y Cosgrove (1982) crearon un nuevo género *Pseudocapillaroides* y Mas-Coma y Esteban (1985), el género *Tenoranema*. Estos autores citaron capiláridos

de anfibios y reptiles dentro de los seis géneros siguientes: *Aonchotheca* López-Neyra, 1947, *Schulmanella* Ivashkin, 1964, *Pseudocapillarioides* Moravec y Cosgrove, 1982, *Capillaria* Zeder, 1800, *Paracapillaria* Mendonça, 1963, *Pseudocapillaria* Freitas, 1959 de los cuales los tres primeros géneros sólo son de anfibios y el último de reptiles.

Cambel (1984) ha reconocido otro género, *Paratrichosoma* Ashford y Muller, 1978, dentro de Capillariinae que fue previamente transferido a esta subfamilia de la familia Trichosomoididae por Anderson y Bain (1982). Los últimos autores también lo consideran un sinónimo de *Capillaria*.

En 1986, Moravec siguió la clasificación de Anderson y Bain (1982) quienes listaron los parásitos capiláridos de la subfamilia Capillariinae (familia Trichuridae), considera que todas las especies de anfibios y reptiles se incluyen en seis géneros. Las especies de anfibios pertenecen a cuatro géneros mientras que los de reptiles sólo a tres. *Amphibiocapillaria* Moravec, 1982 (anteriormente considerada un subgénero de *Schulmanella*) es el único género común a los capiláridos de anfibios y reptiles, mientras que el resto de los géneros sólo está presente en uno de los dos hospedadores: *Capillaria* Zeder, 1800, *Pseudocapillarioides* Moravec y Cosgrove, 1982 y *Aonchotheca* López-Neyra, 1947 únicamente se encuentran en anfibios, *Paracapillaria* Mendonça, 1963, con el subgénero (*Ophidiocapillaria*) subgen. n. para las especies de serpientes y el subgénero (*Paracapillaria*), para las especies de peces y (*Paratrichosoma*) Ashford y Muller, 1978 en reptiles.

Según Anderson (1992), a esta subfamilia pertenecen los géneros: *Aonchotheca*, *Baruscapillaria*, *Calodium*, *Capillaria*, *Eucoleus*, *Pearsonema*, *Schulmanella*.

Desafortunadamente, no todas las especies conocidas dentro de los Capillariinae se las pueden asignar uno de los géneros de Moravec. No obstante, siguiendo Anderson (1992) este sistema, siempre que fuera posible y también a Skrjabin para especies no mencionadas por Moravec, encontró que especies tan importantes y familiares como *Capillaria hepatica*, *C. philippinesis* y *C. aerophilus* las tendría que incluir dentro de géneros poco familiares.

Siguiendo a Butterworth y Beverley-Burton (1980) y Anderson y Bain (1982), más que a Moravec (1982, 1986) y Anderson (1992), sólo un género se reconoce en esta subfamilia, el género *Capillaria* Zeder, 1800.

Los organismos de esta subfamilia tienen un cuerpo extremadamente fino y filiforme, que no se divide externamente en distintas secciones y es ligeramente más grueso en la parte posterior. La región del cuerpo que ocupa el esófago, varía en longitud. En la cutícula casi siempre se pueden observar bandas bacilares largas. El macho posee una espícula más o menos quitinizada (en algunas especies la espícula está ausente) con una vaina lisa o espinosa que es capaz de plegarse y replegarse. La terminación caudal a menudo tiene unas alas membranosas finas que forman una pseudobolsa caudal que está sostenida por papilas pediceladas. En la hembra, la vulva se encuentra detrás de la unión del esófago y el intestino, a veces sobresaliendo. Los huevos tienen normalmente forma de barril con opérculos en los polos y una membrana lisa o con ornamentación peculiar. Las hembras parasitan varios órganos de mamíferos.

El desarrollo de los Capillariinae es directo o con la participación de un hospedador intermediario.

2.7.4.1.1. Género *Capillaria* Zeder, 1800

Sinónimos: *Trichosoma* Rudolphi, 1819; *Trichosomum* Creplin, 1829; *Liniscus* Dujardin, 1845; *Calodium* Dujardin, 1845; *Eucoleus* Dujardin, 1845; *Thominx* Dujardin, 1845; *Hepaticola* Hall, 1916; *Capillostrongyloides* Freitas et Lent, 1935; *Skrjabinocapillaria* Skarbilovitsch, 1937; *Echinocoleus* López-Neyra, 1946; *Aonchotheca* López-Neyra, 1947; *Gessyella* Freitas, 1959; *Pseudocapillaria* Freitas, 1959; *Pterothominx* Freitas, 1959; *Ritaklossia* Freitas, 1959; *Orthothominx* Freitas y Silva, 1960; *Pearsonema* Freitas y Mendoça, 1960; *Paracapillaria* Mendoça, 1963; *Schulmanella* Ivashkin, 1964; *Armocapillaria* Gargarin y Nazarova, 1966; *Paratrichosoma* Ashford y Muller, 1978; *Schulmanella* (*Amphibiocapillaria*) Moravec, 1982; *Pseudocapillaroides* Moravec y Cosgrove, 1982.

Especie tipo: *Capillaria obsignata* Madsen, 1945.

El género *Capillaria* ha sido muy discutido a lo largo de toda la historia. Antiguamente la especie tipo de este género fue *C. anatis* Schrank, 1790 hasta que fue transferido al género *Thominx* y se propuso a *C. columbae* (Rudolphi, 1819) Travassos, 1915 como especie tipo. Más tarde éstas fueron consideradas sinónimas de *C. caudiflata* y *C. obsignata*, respectivamente y designando a esta última como especie tipo.

Dujardin (1845) crea el género *Thominx* e indica que es diferente de *Trichosoma* por la presencia de una larga vaina espicular espinosa, una espícula gruesa y por la terminación caudal expandida de los machos. Transfiere las especies *Trichosoma manica* y *Trichosoma tridens* a este género. El género fue más tarde cuestionado y degradado en un principio al rango de subgénero del género *Capillaria* (Zeder, 1800) Travassos, 1915. Posteriormente, fue colocado entre sus sinónimos (Baylis, 1931).

Skrjabin (1939) reinstaló el género *Thominx* en los capiláridos, pero López-Neyra (1946) no reconoció la validez del género e incluyó un parte de sus especies en *Eucoleus* y otra, en un nuevo género, *Echinocoleus* que él estableció, entre los que se encontraba *C. costacruzi*.

Skrjabin y col. (1957) no está de acuerdo con López-Neyra en la taxonomía de los capiláridos. Piensa que el género *Echinocoleus* está insuficientemente justificado y mantiene que el género *Thominx* es válido, considerando al género *Echinocoleus* como sinónimo de éste y a *T. manica* Dujardin, 1845 como la especie tipo.

2.7.4.1.1.1. Especie *Capillaria costacruzi* Travassos, 1932

Sinónimos: *Echinocoleus costacruzi* (Travassos, 1932) López-Neyra, 1946; *Thominx costacruzi* Skrjabin y Schikhobalova, 1954.

Hospedador: *Rana* sp.

Localización: Intestino grueso.

Distribución: Portugal.

Su presencia en la Península Ibérica había sido señalada por:

- Travassos (1932) en *Rana* sp. de Portugal.
- Oliveira-Rodrigues y col. (1973) en *R. esculenta* (*R. perezii*) de Portugal (Coimbra).

Travassos (1932) fue el primero en describir la especie *C. costacruzi* del intestino de *Rana* sp. de Portugal. Mas tarde fue descrito de nuevo por Freitas y Lent (1935) quien mostró que la longitud de la espícula dada en la descripción original era enorme. López-Neyra (1956) y Skrjabin y Schiklobalova (1954) trasladan esta especie al género *Thominx* por poseer vaina espicular espinosa. Posteriormente, en 1982, esta especie fue transferida por Moravec al subgénero, creado por él, (*Amphibiocapillaria*) del género *Schulmanella*; este subgénero fue en 1986 considerado por Moravec como un género independiente. Rodrigues y col. (1972) también describieron de nuevo la especie basándose en nuevos materiales de *Rana esculenta* (*R. perezii*) de Portugal. Finalmente Anderson y Bain (1982) vuelven a colocarla en el género *Capillaria* y Anderson (1992) mantiene esta determinación.

MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. HOSPEDADOR

En la presente tesis se han estudiado un total de 432 ranas pertenecientes a la especie *Rana perezi* Seoane, 1885, vulgarmente llamada “rana común” o “rana verde”.

Los individuos eran de edad y sexo distinto (renacuajos, formas juveniles y adultos de distinto tamaño), todos ellos capturados en su hábitat natural.

Los muestreos se realizaron en distintas épocas del año y en distintos municipios, según se indica en la tabla:

LOCALIDADES	Primavera	Verano	Otoño	TOTAL
SAN PEDRO (RÍO)	78	51	23	152
SAN PEDRO (LAGUNA)	15	88	39	142
NIHARRA	7	14	38	59
MARLIN	9	32	0	41
ALBORNOS	4	0	19	23
SANTO TOMÉ	0	15	0	15
TOTAL	113	200	119	432

La ubicación de estas localidades se encuentra en el mapa II.

Se procuró examinar las muestras en el menor tiempo posible, para que su permanencia en el laboratorio no fuera demasiado prolongada, pues según algunos autores (Smyth, 1980) las ranas retenidas en cautividad por largo tiempo, a menudo no alimentadas, pueden perder algunos de sus parásitos. Pero estos datos no hemos podido corroborarlos porque aunque algunos ejemplares, por circunstancias especiales, fueron necropsados después de permanecer más de 30 días en el laboratorio, seguían mostrando un número elevado de parásitos.

3.1.1. CAPTURA Y TRANSPORTE

La captura de las ranas se realizó por la noche utilizando una linterna y una red unida a un mango (semejante a un cazamariposas).

Una vez atrapada en la red se la introducía en unos recipientes adecuados: bien acondicionados, tapados con una malla y con un poco de agua en el fondo, para posteriormente ser transportadas vivas hasta el laboratorio.

3.1.2. MANTENIMIENTO EN EL LABORATORIO

Las ranas se llevaron al laboratorio en partidas de aproximadamente 50 ejemplares. Se alojaron en terrarios con paredes lisas y verticales y tapados con una malla para evitar que se escaparan. Se llenaba el fondo con unos litros de agua, que se cambiaba frecuentemente, y unas piedras para que pudieran subirse en ellas. Se las alimentaba con lombrices de tierra, vivas.

3.2. MATERIAL DE LABORATORIO

- Material de disección.
- Platina eléctrica.
- Lupa binocular Nikon SM-10 para la recogida y separación de helmintos.
- Microscopio Olympus B.H.C.
- Micrómetro ocular Olympus O.S.M. y un portaobjetos calibrado ZEISS 005 para el estudio morfométrico.
- Cámara clara Olympus adaptada al microscopio para realizar las ilustraciones.
- Equipo fotográfico automático Olympus PM-10-35 A.

3.3. TÉCNICAS PARASITOLÓGICAS

3.3.1. NECROPSIA Y RECOGIDA DEL MATERIAL

Los animales eran sacrificados en un frasco de cierre hermético en el que se había introducido previamente algodón empapado en éter etílico.

Tras su sacrificio se realizaba un reconocimiento macroscópico de la superficie externa de la rana, con la ayuda de una lupa binocular, en busca de posibles ectoparásitos o quistes y a continuación se procedía al reconocimiento de los órganos internos. Para tal fin se prendía con alfileres a un soporte de corcho y se practicaba un corte ventral, dejando a la vista los órganos internos. Se realizaron los siguientes pasos:

- 1º Comprobación del estado general de la cavidad abdominal y torácica, además de la búsqueda de filarias y formaciones quísticas.
- 2º Toma de muestra de sangre para su observación microscópica en fresco y la realización de frotis (debido a la pequeña cantidad de sangre que posee se daba un corte en el corazón) para la búsqueda de parásitos hemáticos.
- 3º Improntas de hígado para la localización de formas tisulares de parásitos hemáticos y esporozoos.
- 4º Observación al microscopio y a la lupa binocular de la vejiga y de los pulmones para detectar la posible existencia de protozoos y helmintos.
- 5º Extracción del intestino grueso para su análisis:

- Toma de muestra a la altura del duodeno y del recto para la observación microscópica (en fresco y en extensión con una gota de suero) y el estudio de los parásitos.
 - Observación a la lupa del resto del contenido intestinal, en una placa petri con solución salina al 0,9% para la búsqueda de helmintos.
- 6° Visualización directa o en la lupa del resto de la musculatura estriada, especialmente las ancas, para ver la existencia de filarias. Observación por compresión, en el microscopio, de una porción de musculatura para la búsqueda de posibles parásitos.

Todos los datos obtenidos eran anotados en una ficha abierta a cada rana sacrificada, en la cual se incluía: sexo, estado de desarrollo (edad), lugar de procedencia, fecha de captura y necropsia y otras observaciones.

3.3.2. ESTUDIO DE LOS PROTOZOOS

3.3.2.1. Observaciones en fresco

- **Protozoos sanguíneos, hepáticos y de la vejiga urinaria**

En primer lugar se realiza un examen directo de sangre y vejiga en fresco en el microscopio, para detectar la posible existencia de parásitos. A continuación se hacen frotis sanguíneos e improntas de hígado y vejiga para su posterior tinción.

- **Protozoos fecales**

Se recoge parte del contenido intestinal (del duodeno y del recto) y se coloca entre porta y cubre con una solución salina. Se observa al microscopio la presencia de protozoos (trofozoítos y quistes). A continuación se hacen varias extensiones fecales para teñirlas por distintas técnicas.

Cuando la preparación contenía ooquistes de coccidios, se añadía en el mismo portaobjetos una gota de solución de Dicromato potásico al 2,5% para que maduraran y se sellaba el cubre con D.P.X. para no perder el estado de humedad. Tras la esporulación se observaban al microscopio con el fin de dibujarlos y medirlos.

Estas observaciones en fresco son importantes porque nos dan una idea de la densidad y calidad de la parasitación del animal, así como de las características de movilidad y comportamiento de cada parásito.

3.3.2.2. Técnicas de tinción

Estas técnicas se emplean para confirmar la observación en directo o para apreciar la morfología de los distintos protozoos y llegar a su identificación.

Las mediciones de los parásitos se realizaron en preparaciones teñidas, ya que en fresco es casi imposible hacerlo, debido a la movilidad que tienen.

Las tinciones permanentes utilizadas han sido:

- **Método de May-Grüwald-Giemsa**

Procedimiento:

- Los frotis de sangre y las improntas de hígado y vejiga se dejan secar al aire.
- Se fijan en alcohol metílico durante 15 minutos.
- Se introducen las preparaciones en una solución acuosa de Giemsa al 17,5% durante unos 30 minutos.
- Se lavan, se dejan secar al aire y se observan al microscopio con el objetivo de inmersión.

- **Método de Giemsa-Suárez Peregrín**

Es una modificación del anterior pero que proporciona unas imágenes más nítidas de los protozoos fecales, sobre todo de las formas trofozoicas.

Consiste en mezclar las heces con una gota de suero sanguíneo, para después efectuar una extensión transversal con el cubre. La fijación y tinción se realiza igual que en el método anterior.

- **Técnica de Bodian al Protargol modificada (impregnación argéntica)**

Procedimiento:

- 1º Se fijan los frotis en fijador de *Bouin* de 15-60 minutos.

Bouin:

- Solución acuosa saturada de ácido pícrico..... 75ml
- Formol al 40%..... 25ml
- Ácido acético glacial..... 5ml

- 2º Se lava bien con agua destilada, al igual que después de cada paso realizado.
- 3º Según la técnica original, a continuación se blanquearía el material con una solución de permanganato potásico al 0,5% durante cinco minutos, se lavaría y se introduciría en una solución de ácido oxálico al 5% durante otros cinco minutos. Nos hemos saltado este paso porque se blanqueaba tanto el frotis que apenas quedaba nada en la preparación.
- 4º Se prepara una solución de protargol al 1% en agua destilada, inmediatamente antes de su uso. Para ello se espolvorea el protargol en la superficie del agua y se deja disolver sin agitar ni calentar. Se coloca 0,5 g de alambre de cobre en 10 ml de solución de protargol y se meten los frotis durante 2-3 días a 37° C cambiando la solución el 2º día.
- 5º Se reduce en una solución de hidroquinona al 1% en solución de sulfito sódico al 5%, de 5-10 minutos.
- 6º Se vira en cloruro de oro al 1% durante 4-5 minutos.
- 7º Se introduce en ácido oxálico al 2% hasta conseguir un color púrpura (alrededor de 10 minutos).
- 8º Se pone en una solución de tiosulfato sódico al 5% de 5-10 minutos.

- 9° Se lava varias veces en agua destilada, se deshidrata en una batería de alcoholes (70°, 85°, 96°, absoluto y xilol; durante 15 minutos cada uno) y se monta rápidamente en bálsamo de Canadá.

Ventajas:

- * En los flagelados se tiñen de color pardo oscuro los flagelos y endosomas y de un color pardo el núcleo, resultando muy manifiestas determinadas estructuras:
 - En Diplomonadida:
 - *Spiromucleus* y *Hexamita*: los tubos citostómicos de los flagelos posteriores.
 - *Giardia*: el anillo del disco succionario, funículo y cuerpos medios.
 - En Retortamonadida: la lámina paracristalina citostomal de *Chilomastix*.
 - En Trichomonadida: la costa, las fibras parabasales y los gránulos paracostales y paraaxostilares.
- * En opalinidos se observa muy bien la hoz que nos permite diferenciar los géneros *Opalina* sp. y *Cepedea* sp.
- **Tinción con Hematoxilina**
 - Los frotis se introducen en Hematoxilina de Harris (la utilizada en la tinción de Papanicolau) durante 6 minutos.
 - Se lavan.
 - Se sumergen durante 1 minuto en verde light al 2%.
 - Lavar, deshidratar en batería de alcohol y montar en bálsamo de Canadá.

Esta técnica nos permite ver mejor las estructuras nucleares de los ciliados que la tinción con Giemsa, ya que en este último caso quedan bastante oscuras y no se pueden apreciar.

3.3.2.3. Técnicas de cultivo

- **Medio difásico Diamond's SN B9 modificado (para tripanosomas).**

- Agar.....	18 g.
- ClNa.....	4,95 g
- Neopeptona (Difco).....	18 g.
- Agua.....	900 ml.

Se esteriliza a 120°C, 15 minutos y se distribuyen 5ml en tubos de cultivo con tapón de rosca y estériles. Se deja descender la temperatura a 48°C y se añade antibiótico (penicilina 500 UI/ml y estreptomycinina 500 µg/ml) y 0,5 ml de sangre humana citratada. Se deja enfriar inclinado. Posteriormente se añade un sobrenadante de 1 ml de caldo sin agar. Incubar a 20°C. Subcultivos cada 6-12 días.

• **Medio de Boeck y Drbohlav (para protozoos fecales).**

Solución Ringer:

- ClNa.....	7 g.
- Cl ₂ Ca.....	0,25 g.
- ClK.....	25 g.
- Agua destilada.....	1000 ml.

Solución Loocke:

- ClNa.....	9 g.
- Cl ₂ Ca.....	0,2 g.
- ClK.....	0,4 g.
- CO ₃ HNa.....	0,2 g.
- Glucosa.....	2,5 g.
- Agua destilada.....	1000 ml.

Se toman 4 huevos y una vez lavados y frotados con alcohol, se rompen y se vacían en un matraz Erlenmeyer con perlas de vidrio. Se mezclan con 50 ml de solución Ringer estéril y se emulsiona por agitación.

Se reparte en tubos de ensayo en cantidad suficiente para producir superficies inclinadas de 3-4 cm de extensión. Se coagula a 70°C hasta que la mezcla se solidifique y se esteriliza en el autoclave a 120°C durante 20 minutos.

En el momento de la siembra se cubre el soporte sólido de cada tubo con una mezcla a partes iguales de solución Loocke estéril y suero sanguíneo humano inactivo y estéril (1,5 ml respectivamente).

Se filtra y se esteriliza en el autoclave a 1 atmósfera y a 120°C durante 15 minutos.

• **Suero glucosado de Loeffler (para protozoos fecales).**

- Agua.....	1000 ml
- Extracto de carne (Bovril).....	1 g
- Peptona.....	20 g
- Glucosa.....	10 g
- ClNa.....	5 g

Una vez preparado se alcaliniza ligeramente con NaOH. Se esteriliza en el autoclave a 120°C durante 20 minutos. A continuación mezclamos una parte de caldo glucosado con tres partes de suero de caballo o de buey. Se reparte en tubos y se coagula inclinado a 70-75°C a vapor fluyente. Se añade a los tubos una mezcla de 1,5 ml de solución Ringer y 0,5 ml de suero humano, inactivado y estéril. Se incuba a 37°C durante 48 horas y para mantener el cultivo efectuamos pases cada 48 horas. Las muestras se toman con pipeta estéril del final de la zona líquida.

Modificaciones: se puede sustituir el suero de caballo para el soporte sólido por plasma humano y la solución Ringer por solución Loocke.

3.3.3. ESTUDIO DE LOS TREMATODOS

3.3.3.1. Recogida de trematodos

En una placa petri con solución salina al 0,9% se coloca: el intestino, la vejiga y los pulmones de la rana y posteriormente se llevan a una lupa binocular. Con la ayuda de unas agujas enmangadas se abren y con mucho cuidado se separan los trematodos de las paredes de dichos órganos.

3.3.3.2. Fijación y conservación

Para su fijación, colocamos los trematodos entre dos portas, para que queden bien aplastados y estirados, dentro de una solución de formol al 10% durante 1 día. Ésto nos permite una buena observación y medición de sus estructuras internas.

A continuación se procede a su tinción y montaje. Aquellos ejemplares que no son montados se guardan en eppendorfs con alcohol de 70° o formol al 10% debidamente etiquetados.

3.3.3.3. Tinción y montaje

Consta de los siguientes pasos:

- 1° Se introducen en agua durante 2 horas.
- 2° Se dejan durante 1 día en Carmín clorhídrico alcohólico.

Carmín clorhídrico alcohólico

- Agua destilada 5ml
- Ácido clorhídrico concentrado 5ml
- Carmín 5g

- * Se deja reposar 1 hora.
- * Se añade 200 ml de alcohol de 90° y se calienta al “Baño María” hasta lograr la dilución total del carmín (reponer el alcohol evaporado durante el calentamiento).
- * Se filtra la disolución.

- 3° Se introduce en alcohol de 70°.
- 4° Se diferencia, si fuera necesario, con ácido clorhídrico diluido.
- 5° Se deshidrata en la batería de alcoholes y se monta con bálsamo de Canadá.

3.3.4. ESTUDIO DE LOS NEMATODOS

3.3.4.1. Recogida de nematodos

Una vez sacrificada la rana, se quita la piel y se observa de forma directa o a través de la lupa, toda la musculatura estriada, especialmente las ancas y el tórax que son donde más frecuentemente se encuentran las filarias. Con ayuda de unas agujas enmangadas se rasga la musculatura hasta poder acceder a ellas. Se extraen tirando de ellas cuidadosamente.

El intestino y los pulmones de la rana son recogidos en placas petri con solución salina al 0,9%, se llevan a la lupa binocular y con las agujas enmangadas se abre longitudinalmente, saliendo al exterior todo su contenido. En la placa petri del intestino, se disgregan los restos alimenticios y las heces para dejar libre los nematodos que allí se encuentran. Posteriormente se raspa con cuidado la mucosa para observar y separar las posibles larvas enquistadas.

Resulta interesante la observación en fresco, ya que nos permite conocer y esquematizar la localización y forma de las estructuras “in vivo” que por tratamientos posteriores podrían quedar ligeramente modificadas.

3.3.4.2. Fijación y conservación

Para la fijación y conservación de los nematodos se emplea alcohol de 70°, a una temperatura que oscila entre 70 y 75°C aproximadamente, agitándose suavemente durante unos segundos para que queden bien estirados. Esto permite, a posteriori, una buena medición y observación de las estructuras internas.

A continuación se procede al montaje de los ejemplares y aquellos que no se montan se guardan en eppendorfs con alcohol de 70°, debidamente etiquetados.

3.3.4.3. Aclarado y montaje

Una vez fijados los nematodos se procede a su montaje. A tal efecto se utiliza un portaobjetos desengrasado sobre el que se deposita una gota del líquido de montaje: Lactofenol de Amman. Con una aguja enmangada se coloca el nematodo y finalmente se desliza encima el cubreobjetos. Se observa al microscopio y se sitúa en la posición correcta.

Lactofenol de Amman

- Cristales de fenol 1 parte
- Ácido láctico 1 parte
- Glicerina 2 partes
- Agua destilada 1 parte

Se produce un aclaramiento progresivo, lo que permite una visión mejor de las estructuras internas, si bien con el tiempo llegan a transparentarse demasiado. Al

lactofenol puede añadirse un colorante: Azul de Algodón, Giemsa al 0,05% o Lugol al 5%, lo que permite resaltar ciertas estructuras internas de interés, además de subsanar en gran medida el aclaramiento excesivo.

A veces se observa un ligero arrugamiento del nematodo cuando se le cambia del alcohol de 70° al lactofenol, como consecuencia de la diferencia de viscosidad de los líquidos, pero al cabo de un tiempo el lactofenol penetra en el interior del verme recuperando su forma inicial. Puede solventarse este arrugamiento inicial añadiendo al Lactofenol de Amman, alcohol de 70° (1:1) para que la diferencia de viscosidad no sea tan grande.

Finalmente, los ejemplares - una vez estudiados, medidos y clasificados - se desmontan y conservan en viales con alcohol de 70°, aunque hay que destacar que los que permanecen durante mucho tiempo en alcohol, pueden llegar a deshidratarse demasiado, retrayéndose su cutícula, lo que puede dificultar su estudio.

3.4. MEDICIONES Y CALIBRADO

Para realizar las medidas de los protozoos y helmintos encontrados, utilizamos un microscopio al cual se le ha acoplado un micrómetro ocular. Las medidas, realizadas en las preparaciones fijadas y teñidas, de los distintos ejemplares son las siguientes:

- **Protozoos**
 - Tamaño del cuerpo
 - Tamaño del núcleo
 - Longitud del axostilo
 - Longitud de los flagelos
 - Distancia núcleo-kinetoplasto
 - Distancia kinetoplasto-extremo posterior
 - Citostoma
 - Hoz
- **Trematodos**
 - Tamaño del cuerpo
 - Diámetro de la ventosa oral
 - Diámetro de la ventosa ventral
 - Tamaño de la faringe
 - Tamaño del ovario
 - Tamaño de los testículos
 - Longitud del ciego
 - Tamaño de los huevos

- **Nematodos**

- Tamaño del cuerpo
- Tamaño del esófago
- Distancia del extremo cefálico al poro excretor
- Longitud del apéndice caudal
- Distancia del extremo cefálico a la vulva (hembras)
- Longitud de las espículas (machos)
- Tamaño de los huevos (hembras)

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se han realizado análisis estadísticos de las muestras examinadas, empleándose los métodos habituales descritos por Sokal & Rohlf (1979), calculándose la media aritmética y la desviación típica.

Asimismo, se han utilizado la prevalencia y la intensidad de parasitación para las diferentes especies parásitas estudiadas.

En Parasitología, el concepto de “prevalencia” se refiere a la relación existente entre el número de hospedadores infestados con un determinado parásito y el número total de hospedadores examinados, expresándose habitualmente en términos de porcentaje

La intensidad de “parasitación” o “carga parasitaria” es el número de individuos de una especie parásita presente en cada individuo hospedador parasitado.

La “intensidad media” es la media de las intensidades de parasitación individuales de los hospedadores infestados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Hemos examinado un total de 432 ranas de la especie *Rana perezii* Seoane, 1885, procedentes de cinco localidades de la zona llana de la provincia de Ávila: Albornos, Marlín, Niharra, Santo Tomé y San Pedro del Arroyo (río y laguna).

En todas las ranas estudiadas se encontró algún tipo de parásito, lo que supone una prevalencia del 100%. Esta infección puede ser debida a protozoos, nematodos, trematodos y bacterias. Lo más frecuente es que la infección sea doble (por protozoos y otro de los tres grupos de parásitos, principalmente nematodos), o triple (por protozoos y la combinación de dos de los otros tres grupos de parásitos), aunque también nos podemos encontrar con una infección simple (sólo por protozoos) o cuádruple (con los cuatro grupos de parásitos) (Tabla 1).

Nota: los parámetros de todas las tablas de resultados están ordenados en orden decreciente.

Tabla 1

PARASITOS	Nº Ranas	%
SIN INFECCIÓN	0	0,0
SIMPLE: Protozoos	84	19,4
DOBLE:	198	45,8
Protozoos + Nematodos	160	37,0
Protozoos + Trematodos	21	4,9
Protozoos + Bacterias	17	3,9
TRIPLE:	106	24,5
Protozoos + Nematodos + Bacterias	54	12,5
Protozoos + Nematodos + Trematodos	40	9,3
Protozoos + Trematodos + Bacterias	12	2,8
CUÁDRUPLE: Prot. + Nem. + Trem. + Bact.	44	10,2
TOTAL INFECTADAS	432	100

En *R. perezii* hemos identificado 41 especies de parásitos: 29 protozoos, 6 trematodos, 2 nematodos y 2 especies bacterianas. El número máximo de especies distintas que han aparecido en una rana es 21 y el mínimo, 1. Entre estos dos datos se encuentran todos los valores intermedios, con una distribución distinta entre las ranas (Tabla 2).

Tabla 2

Sp.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Nº	5	13	8	12	16	14	27	35	36	40	38	33	40	40	25	21	10	12	3	2	2
%	1,2	3,0	1,9	2,8	3,7	3,2	6,3	8,8	9,0	9,3	9,5	7,6	9,3	9,3	5,6	4,9	2,3	2,8	0,7	0,5	0,5

Sp.: Nº de especies de parásitos encontrados en cada rana.

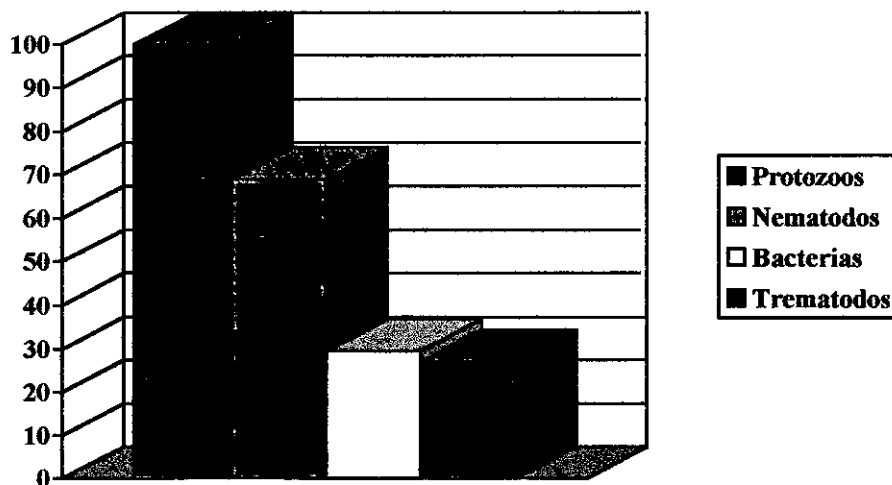
Nº: Nº de ranas infectadas. %: % de ranas infectadas.

La prevalencia de los distintos grupos de parásitos en las ranas se muestran en la tabla 3 y en la gráfica 1.

Tabla 3

PARÁSITOS	Protozoos	Nematodos	Bacterias	Trematodos
Nº Ranas	432	298	128	117
Prevalencia (%)	100	69	29.6	27.1

Gráfica 1: Prevalencia de Parásitos.



También hay que destacar que dentro del intestino de la rana hemos encontrado rotíferos, que son seres de vida libre que se localizan en el agua y sobre la piel de las ranas y que han sido deglutidos junto con ésta. Pero hemos encontrado algunos de estos rotíferos vivos dentro del intestino por lo que no podemos determinar si se trata de una verdadera parasitación o de un parasitismo accidental.

Ninguno de los parásitos de ranas encontrados se han citado en casos de parasitismos humanos.

4.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LAS BACTERIAS SANGUÍNEAS

4.1.1. GENERALIDADES

Hemos identificado morfológicamente sólo dos especies de bacterias (del grupo de las rickettsias) que han aparecido en la sangre, dentro y fuera de los eritrocitos, en vacuolas parasitóforas o libres en el citoplasma.

1. *Aegyptianella bacterifera* (Labbé, 1894) Barta, 1989.

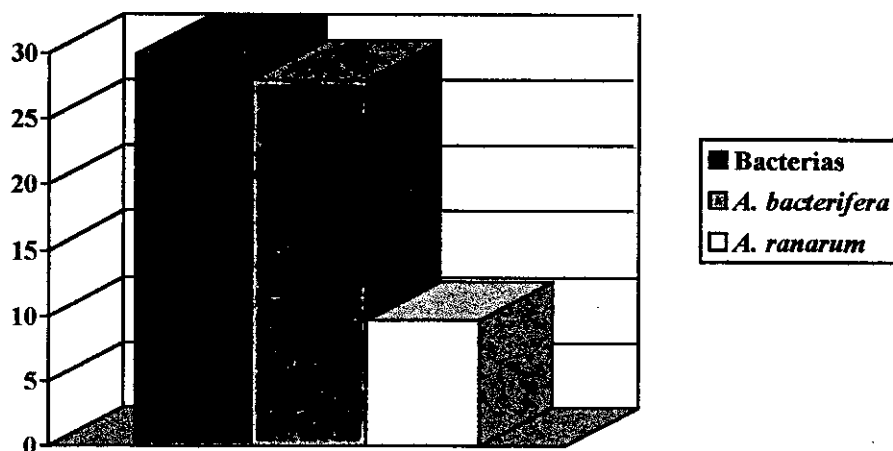
2. *Aegyptianella ranarum* Desser, 1987.

De las ranas estudiadas, 128 resultaron estar parasitadas por estas bacterias, lo que supone una prevalencia del 29,6%. Esta infección puede ser (en orden decreciente): simple (por una sola especie de bacterias) o doble (por las dos especies) (Tabla 4).

Tabla 4

BACTERIAS	Nº Ranas	%
Sin infectar	304	70,4
Simple:	93	21,5
<i>A. bacterifera</i>	86	19,9
<i>A. ranarum</i>	7	1,6
Doble: <i>A. bacterifera</i> + <i>A. ranarum</i>	35	8,1
Total infectadas	128	29,6

Gráfica 2: Prevalencia de Bacterias.



En la tabla 5 se muestra la intensidad media y en la tabla 6 y gráfica 2, la prevalencia. Esta intensidad está expresada por un intervalo que va del 1 al 3: el 1 indica un mínimo número de bacterias y el 3 el máximo número de bacterias encontradas en cada rana. Cada tabla incluye el sexo, la estación y la localidad de las ranas (por orden decreciente).

Tabla 5

Intensidad Media	<i>A. bacterifera</i>	<i>A. ranarum</i>
SEXO/EDAD		
HEMBRA	1,3	1,2
MACHO	1,4	1,1
RANITA	0,0	0,0
RENACUAJO	0,0	0,0
ESTACIÓN		
VERANO	1,4	1,0
OTOÑO	1,5	1,5
PRIMAVERA	1,2	1,1
LOCALIDAD		
S. TOME	1,4	1,0
MARLÍN	1,3	1,0
NIHARRA	1,3	1,4
RÍO	1,4	1,3
LAGUNA	1,4	1,2
ALBORNOS	0,0	1,0
TOTAL		
432 RANAS	1,4	1,2

Tabla 6

Prevalencia (%)	<i>A. bacterifera</i>	<i>A. ranarum</i>	Bacterias
SEXO/EDAD			
HEMBRA	30,5	12,1	32,8
MACHO	29,7	9,2	30,6
RANITA	0,0	0,0	0,0
RENACUAJO	0,0	0,0	0,0
ESTACIÓN			
VERANO	36,5	11,0	38,0
OTOÑO	21,8	9,2	24,4
PRIMAVERA	19,5	8,0	19,5
LOCALIDAD			
S.TOMÉ	80,0	20,0	86,7
MARLÍN	51,2	19,5	53,7
NIHARRA	37,3	8,5	37,3
RÍO	30,3	9,9	30,3
LAGUNA	14,1	7,0	16,2
ALBORNOS	0,0	4,3	4,3
TOTAL			
432-RANAS	28,0	9,7	29,4

4.1.2. DESCRIPCIÓN DE LAS BACTERIAS ENCONTRADAS

4.1.2.1. *Aegyptianella bacterifera* (Labbé, 1894) Barta, 1989

Se localiza dentro de vacuolas esféricas y translúcidas en los polos de los eritrocitos. Cada vacuola contiene de 1 a 12 organismos alargados y densamente teñidos que miden de 2,3 ($\pm 0,5$) a 4,9 ($\pm 0,6$) por 0,5 μm aproximadamente. Incluso las vacuolas con uno o muy pocos organismos están bien desarrolladas. También han aparecido organismos libres por el citoplasma del eritrocito e incluso fuera de este, en el plasma sanguíneo.

Normalmente, se encuentran libres dentro de la membrana que rodea a la vacuola, que además contiene una gran variedad de pequeñas vesículas, otras inclusiones con partículas densas y minúsculas, y cuerpos esféricos, de tamaño y densidad variable.

La rickettsia está rodeada de una pared celular semejante a la de las bacterias Gram negativas. Por encima de ésta, se encuentra otra membrana más externa separada por una capa fina y densa, y por debajo, la membrana plasmática que está separada por una estrecha zona translúcida llamada espacio periplásmico. El interior del organismo está formado por un material floculado, ligeramente filamentoso y de distinta densidad. El material más denso predomina en la periferia de la bacteria (Foto 8).

Se han visto evidencias de fisión binaria longitudinal.

A. bacterifera es una especie poco frecuente en la rana común de Ávila con una prevalencia del 28,0% y una intensidad media de parasitación baja, 1,4 de media por rana, siendo esta intensidad muy regular, con relación a la edad, sexo, estaciones del año y localidad de la rana (Tabla 7). A diferencia de Ávila, en Canadá su prevalencia fue más alta, del 45% en el río Bravonne y del 76% en el río Fium Orbo.

Tabla 7

<i>A. bac.</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	HEM	MAC	RAN	REN	VER	OTO	PRI	S.TO	MAR	NIH	RIO	LAG	ALB	
Nº +:	53	68	0	0	73	26	22	12	21	22	46	20	0	121
I. M.:	1,3	1,4	0,0	0,0	1,4	1,5	1,2	1,4	1,3	1,3	1,4	1,4	0,0	1,4
P. (%)	30,5	29,7	0,0	0,0	36,5	21,8	19,5	80,0	51,2	37,3	30,3	14,1	0,0	28,0

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por esta bacteria.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Ver: Verano, Oto: Otoño y Pri: Primavera.

S.To: Santo Tomé, Mar: Marlín, Nih: Niharra, Río: San Pedro del Arroyo (río), Lag: San Pedro del Arroyo (laguna) y Alb: Albornos.

Esta bacteria sólo ha aparecido en las ranas adultas, siendo prácticamente igual su prevalencia e intensidad tanto en hembras como en machos. Su presencia ha sido nula en los ejemplares juveniles (ranitas) y renacuajos.

Si tenemos en cuenta los distintos periodos del año, verano ha sido la estación con mayor porcentaje de parasitación, 36,5%, mientras que en otoño y primavera su prevalencia es muy semejante, aunque menor que en verano (alrededor del 20%).

Con relación a las distintas localidades vemos que el porcentaje de parasitación varía muchísimo entre las distintas zonas, oscilando entre un rango del 80,0% en S.Tomé y 14,1% en S.Pedro (laguna), estando ausente en Albornos.

A. bacterifera tiene una distribución cosmopolita, pero en la Península Ibérica no ha sido citado anteriormente y por tanto nosotros consideramos a *R. perezi* y a Ávila como nueva cita de hospedador y de área geográfica.

4.1.2.2. *Aegyptianella ranarum* Desser, 1987

En un frotis sanguíneo se pueden observar inclusiones intraeritrocitarias esféricas y rugosas de 3 a 11 µm que, normalmente, no distorsionan la célula hospedadora y que contienen procariotas con forma de varilla. Las inclusiones inmaduras son de forma irregular y con unos cuantos organismos largos, teñidos densamente y, a menudo, ordenados en paralelo. Las maduras son esféricas y con numerosos organismos (90-120) más cortos, menos teñidos y oscilando entre 1-1,7 µm por 200-300 nm. También se han visto dos colonias en un mismo eritrocito, grupos de organismos libres en el citoplasma de los eritrocitos o incluso fuera de ellos (Foto 9).

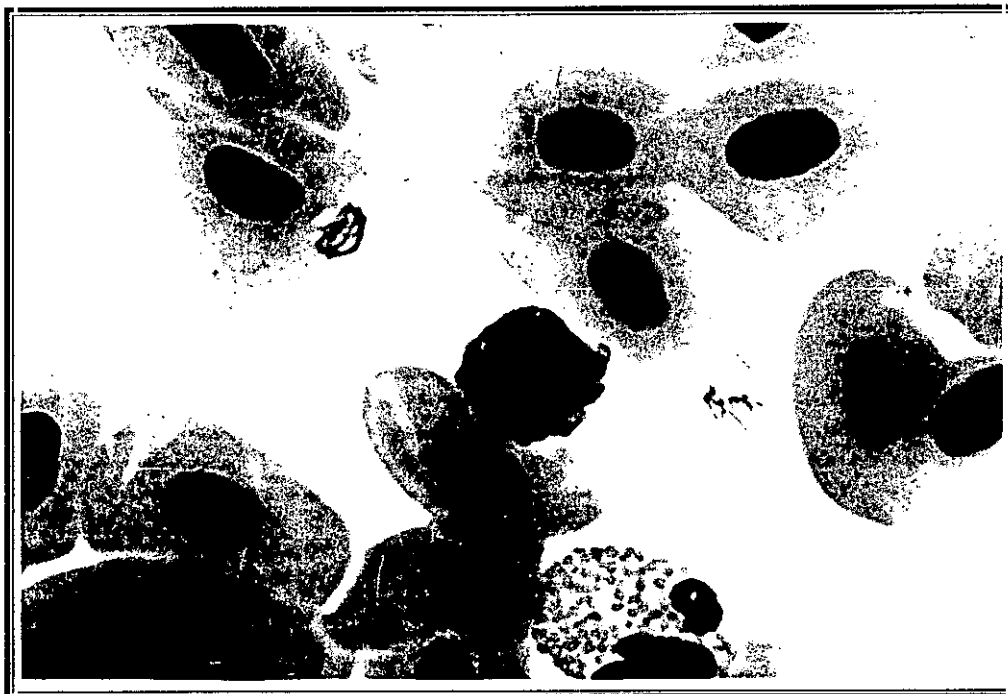


FOTO 8: *Aegyptianella bacterifera* (3150 x).

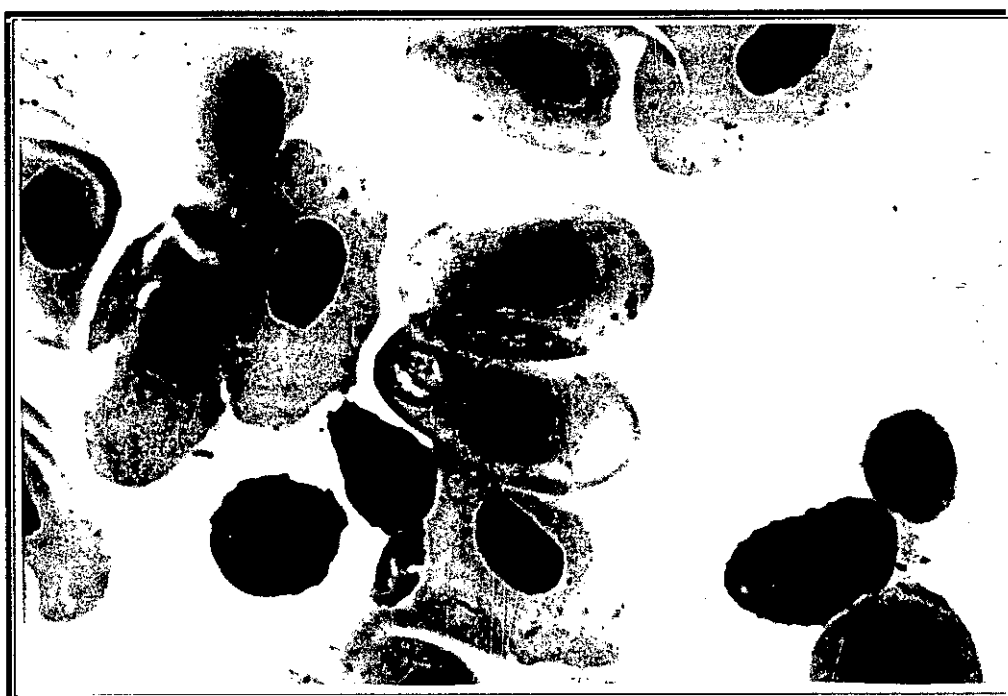


FOTO 9: *Aegyptianella ranarum* (3150 x).

Estas bacterias están rodeadas de una membrana trilaminar de morfología y características químicas semejantes a la pared de las bacterias Gram negativas y cubiertas externamente por un material denso muy rizado. El espacio periplásmico es una zona estrecha y reluciente que separa a la membrana plasmática. El interior del organismo está formado por un material denso, floculado y ordenado periféricamente así como una región central filamentosa menos densa, el nucleóide. También se ha observado la presencia de ribosomas en la región interna más densa y ADN en el nucleóide. Los organismos se dividen por fisión binaria.

El vector es la sanguijuela en donde se desarrollan las rickettsias.

A. ranarum es una especie mucho menos frecuente en la rana común de Ávila que *A. bacterifera* con una prevalencia del 9,7% y con una intensidad media de parasitación aun más baja, 1,2 de media por rana (Tabla 8). En Canadá el porcentaje de parasitación en distintas ranas fue muy variado, entre el 69,2% y 3,5%.

Tabla 8

<i>A. ran</i>	Sexo/Edad				Estación					Localidad				Total
	HEM	MAC	RAN	REN	VER	OTO	PRI	S.TO	MAR	RIO	NIH	L.AG	ALB	
Nº +	21	21	0	0	22	11	9	3	8	15	5	10	1	42
I.M.	1,2	1,1	0,0	0,0	1,0	1,5	1,1	1,0	1,0	1,3	1,4	1,2	1,0	1,2
P. (%)	12,1	9,2	0,0	0,0	11,0	9,2	8,0	20,0	19,5	9,9	8,5	7,0	4,3	9,7

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por esta bacteria.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

A. ranarum al igual que *A. bacterifera* sólo ha aparecido en las ranas adultas, siendo su prevalencia e intensidad en hembras y en machos casi igual (alrededor del 10% y 1,2).

Entre las distintas estaciones y a diferencia de *A. bacterifera*, *A. ranarum* ha mostrado también un porcentaje de parasitación muy similar entre ellas, pero su intensidad media varía entre el 1,5 de otoño y el 1,0 de verano.

Si tenemos en cuenta a las distintas zonas vemos que en *A. ranarum* la prevalencia varía mucho y casi en el mismo orden que en *A. bacterifera*, oscilando entre el 20,0% en S.Tomé y el 4,3% en Albornos.

A. ranarum también tienen una distribución cosmopolita y no ha sido citado anteriormente en la Península Ibérica, por tanto nosotros consideramos a *R. perezi* y a Ávila como nueva cita de hospedador y de área geográfica.

4.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE PROTOZOOS

4.2.1. GENERALIDADES

Dentro de *R. perezii* de Ávila se han identificado un total de 29 especies de protozoos. Todas las ranas analizadas, estaban parasitadas por alguna especie, lo que se traduce en una prevalencia del 100%. El número máximo de especies distintas que han aparecido en una misma rana es de 17 y el mínimo, 1 y, entre ellos, todos los valores intermedios, con una distribución distinta entre las ranas (Tabla 9).

Tabla 9

Sp.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Nº	10	14	14	15	22	22	42	46	50	50	50	33	35	16	10	2	1
%	2,3	3,2	3,2	3,5	5,1	5,1	9,7	10,6	11,6	11,6	11,6	7,6	8,8	3,7	2,3	0,5	0,2

Sp.: Nº de especies de protozoos en cada rana.

Nº: Nº de ranas infectadas.

%; % de ranas infectadas.

La localización de las especies de protozoos es:

1. *Retortamonas dobelli* Bishop, 1931, en el intestino grueso.
2. *Chilomastix caulleryi* Alexeieff, 1909, en el intestino grueso.
3. *Hexamita intestinalis* Dujardin, 1841, en el intestino grueso.
4. *Spirotrichus elegans* Lavier, 1936, en el intestino grueso.
5. *Bruggerolleia algonquinensis* Desser, Hong, Siddall and Barta, 1993, en la sangre.
6. *Octomitus neglectus* (Lavier, 1936) Grassé, 1952, en el intestino grueso.
7. *Giardia agilis* Kunstler, 1882, en el intestino delgado.
8. *Monocercomonas maculatus* Carrera-Moro, 1987, en el intestino grueso.
9. *Trichomitus batrachorum* (Perty, 1852) Honigberg, 1963, en el intestino grueso.
10. *Tetratrichomonas prowazeki* (Alexeieff, 1909) Alexeieff, 1911, en el intestino grueso.
11. *Trypanosoma rotatorium* Mayer, 1843, en la sangre.
12. *Trypanosoma loricatum* Mayer, 1843, en la sangre.
13. *Trypanosoma* sp.1, en la sangre.
14. *Trypanosoma* sp.2, en la sangre.
15. *Rhizomastix* sp. Alexeieff, 1911, en el intestino grueso.
16. *Opalina ranarum* (Ehrenberg, 1832) Purkinje y Valentin, 1835, en el intestino grueso.
17. *Opalina obtrigona* Stein, 1867, en el intestino grueso.
18. *Cepedea dimidiata* (Stein, 1860) Metcalf, 1923, en el intestino grueso.
19. *Entamoeba ranarum* Grassi, 1879, en el intestino grueso.
20. Amebas tipo "limax", en el intestino grueso.
21. *Eimeria prevoti* (Laveran and Mesnil, 1902) Doflein, 1909, en el intestino grueso.

22. *Lankesterella minima* (Chaussat, 1850) Nöller, 1912, en la sangre.
23. *Dactylosoma ranarum* (Lankester, 1882) Wenyon, 1926, en la sangre.
24. *Nyctotheroides cordiformis* (Ehrenberg, 1838) Grassé, 1928, en el intestino grueso.
25. *Balantidium duodeni* Stein, 1867, en el intestino delgado.
26. *Balantidium entozoon* Ehrenberg, 1838, en el intestino grueso.
27. *Balantidium elongatum* Stein, 1867, en el intestino grueso.
28. *Trichodina ranae* Da Cunha, 1950, en la vejiga urinaria.
29. *Blastocystis enterocola* Alexeieff, 1911, en el intestino grueso.

Las especies de mayor intensidad media por orden decreciente fueron: *Giardia agilis*, *Chilomastix caulleryi*, *Blastocystis enterocola*, *Trichodina ranae*, *Opalina obtrigona*, *Brugerolleia algonquinensis*, *Eimeria prevoti*, *Trypanosoma* sp.1, *Octomitus neglectus*, *Spiromucleus elegans*, *Cepedea dimidiata*, *Lankesterella minima*, *Monocercomonas maculatus*, Amebas tipo "limax", *Trichomitus batrachorum*, *Rhizomastix* sp., *Retortamonas dobelli*, *Opalina ranarum*, *Trypanosoma rotatorium*, *Trypanosoma loricatum*, *Trypanosoma* sp.2, *Dactylosoma ranarum*, *Balantidium duodeni*, *Balantidium entozoon*, *Hexamita intestinalis*, *Nyctotheroides cordiformis*, *Entamoeba ranarum*, *Balantidium elongatum* y *Tetratrichomonas prowazeki*.

Las de mayor prevalencia fueron: *Spiromucleus elegans*, *Balantidium entozoon*, *Balantidium duodeni*, *Nyctotheroides cordiformis*, *Trichodina ranae*, *Trichomitus batrachorum*, *Blastocystis enterocola*, *Monocercomonas maculatus*, *Lankesterella minima*, *Cepedea dimidiata*, *Opalina obtrigona*, *Octomitus neglectus*, *Hexamita intestinalis*, *Opalina ranarum*, *Trypanosoma rotatorium*, *Trypanosoma loricatum*, *Trypanosoma* sp.1, *Retortamonas dobelli*, *Entamoeba ranarum*, *Balantidium elongatum*, *Eimeria prevoti*, Amebas tipo "limax", *Dactylosoma ranarum*, *Tetratrichomonas prowazeki*, *Trypanosoma* sp.2, *Giardia agilis*, *Brugerolleia algonquinensis*, *Rhizomastix* sp. y *Chilomastix caulleryi*.

En la tabla 10 se muestra la intensidad media y en la tabla 11 y gráfica 3, la prevalencia. Esta intensidad, al igual que en las bacterias, está expresada por un intervalo que va desde el 1 al 3 (1 el mínimo y 3 el máximo número de ejemplares del parásito en la rana). Cada tabla incluye el sexo, la estación y la localidad de las ranas (en orden decreciente).

Tabla 10

Prev.(%)	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	HEM	MAC	RAN	REN	PRI	VER	OTO	ALB	MAR	NIH	LAG	RÍO	S.TO	
<i>S. ele.</i>	85,1	87,3	35,7	6,7	84,1	78,0	86,6	95,7	75,6	94,9	83,8	73,7	93,3	81,9
<i>B. ento.</i>	84,5	86,5	14,3	0,0	86,7	74,0	84,9	65,2	73,2	84,7	83,8	79,6	80,0	80,3
<i>B. duo.</i>	77,6	74,7	0,0	0,0	79,6	62,0	77,3	78,3	65,9	71,2	70,4	70,4	80,0	70,8
<i>N. cor.</i>	58,0	64,6	35,7	33,3	72,6	56,0	54,6	39,1	58,5	40,7	60,6	70,4	60,0	60,0
<i>T. ran.</i>	61,5	56,3	57,1	60,0	66,4	58,5	51,3	100	65,9	42,4	42,3	67,8	100	58,6
<i>T. bat.</i>	51,1	62,4	21,4	40,0	48,7	66,5	44,5	52,2	80,5	22,0	68,3	50,7	60,0	55,8
<i>B. ente.</i>	56,3	53,7	7,1	6,7	69,9	56,0	26,9	0,0	78,0	13,6	43,0	71,1	93	51,6
<i>M. mac.</i>	44,8	51,1	14,3	20,0	48,7	56,0	27,7	26,1	56,1	3,4	61,3	48,7	53,3	46,3
<i>L. min.</i>	45,4	42,8	7,1	6,7	41,6	44,0	37,0	4,3	24,6	75,6	72,9	40,1	53,3	41,4
<i>C. dim.</i>	36,2	46,7	7,1	6,7	61,1	34,0	29,4	21,7	34,1	27,1	40,8	50,0	20,0	39,8
<i>O. obt.</i>	43,1	33,6	28,6	73,3	26,5	43,5	42,0	17,4	56,1	61,0	29,6	33,6	73,3	38,7
<i>O. neg.</i>	44,8	38,9	0,0	0,0	19,5	43,5	48,7	39,1	41,5	61,0	57,0	13,8	20,0	38,7
<i>H. int.</i>	36,2	36,7	14,3	0,0	44,2	31,5	30,3	47,8	58,5	32,2	23,9	35,5	46,7	34,5
<i>O. ran.</i>	32,2	31,9	21,4	0,0	42,5	32,0	16,8	43,5	24,4	11,9	31,7	38,8	6,7	30,6
<i>T. rot.</i>	31,0	27,6	14,3	0,0	31,5	35,4	15,1	73,3	30,9	36,6	21,1	25,4	13,0	28,0
<i>T. lor.</i>	21,4	30,5	0,0	0,0	27,5	18,6	21,8	73,3	24,3	34,1	11,3	37,3	8,7	23,6
<i>Try. sp.1</i>	26,6	18,4	14,3	0,0	19,0	27,4	21,8	6,7	16,4	14,6	23,9	6,8	0,0	22,0
<i>R. dob.</i>	24,1	21,0	0,0	6,7	10,6	33,5	10,1	4,3	48,8	15,3	24,6	15,8	13,3	21,1
<i>E. ran.</i>	24,1	19,7	0,0	6,7	10,6	21,5	27,7	4,3	17,1	37,3	24,6	14,5	6,7	20,4
<i>B. elo.</i>	9,2	7,9	0,0	0,0	13,3	3,5	10,1	4,3	4,9	13,6	3,5	11,8	0,0	7,9
<i>E. pre.</i>	6,9	5,2	0,0	0,0	9,7	4,5	3,4	0,0	2,4	11,9	3,5	6,6	6,7	5,6
<i>A. lim.</i>	2,3	7,4	7,1	6,7	2,7	9,0	1,7	0,0	17,1	1,7	5,6	4,6	0	5,3
<i>D. ran.</i>	6,3	8,3	0,0	0,0	5,3	11,5	0,8	0,0	4,2	12,2	10,2	5,9	26,7	5,3
<i>T. pro.</i>	5,7	4,8	0,0	6,7	7,1	6,5	0,8	0,0	22,0	0,0	4,2	4,6	0,0	5,1
<i>Try. sp.2</i>	2,9	4,8	0,0	0,0	4,5	2,7	3,4	0,0	2,0	0,0	6,3	6,8	0,0	3,7
<i>G. agi.</i>	0,0	0,0	0,0	66,7	0,0	5,0	0,0	0,0	9,8	0,0	0,0	3,9	0,0	2,3
<i>B. alg.</i>	2,3	0,9	0,0	0,0	0,9	1,0	2,5	0,0	0,7	0,0	5,1	0,7	6,7	1,2
<i>Rhi. sp.</i>	2,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,4	0,0	0,0	6,8	0,0	0,0	0,0	0,9
<i>C. cau.</i>	0,6	0,4	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,4	0,0	0,0	0,5
PROT.	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

I.M.: Intensidad Media. Hem: Hembra, Mac: Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo. Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño. Alb: Albornos, Mar: Marlin, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

G. agi.: *Giardia agilis*, *C. cau.*: *Chilomastix caulleryi*, *B. ente.*: *Blastocystis enterocola*, *T. ran.*: *Trichodina ranarum*, *O. obt.*: *Opalina obtrigona*, *B. alg.*: *Brugerolleia algonquinensis*, *E. pre.*: *Eimeria prevoti*, *Try. sp.1*: *Trypanosoma* sp. 1, *O. neg.*: *Octomitus neglectus*, *S. ele.*: *Spirotrichus elegans*, *C. dim.*: *Cepedea dimidiata*, *L. min.*: *Lankesterella minima*, *M. mac.*: *Monocercomonas maculatus*, *A. lim.*: Amebas tipo "limax", *T. bat.*: *Trichomitus batrachorum*, *Rhi. sp.*: *Rhizomastix* sp., *R. dob.*: *Retortamonas dobelli*, *O. ran.*: *Opalina ranarum*, *T. rot.*: *Trypanosoma rotatorium*, *T. lor.*: *Trypanosoma loricatum*, *Try. sp.2*: *Trypanosoma* sp. 2., *D. ran.*: *Dactylosoma ranarum*, *B. duo.*: *Balantidium duodenii*, *B. ento.*: *Balantidium entozoon*, *H. int.*: *Hexamita intestinalis*, *N. cor.*: *Nyctotheroides cordiformis*, *E. ran.*: *Entamoeba ranarum*, *B. elo.*: *Balantidium elongatum* y *T. pro.*: *Tetratrichomonas prowazeki*.

Tabla 11

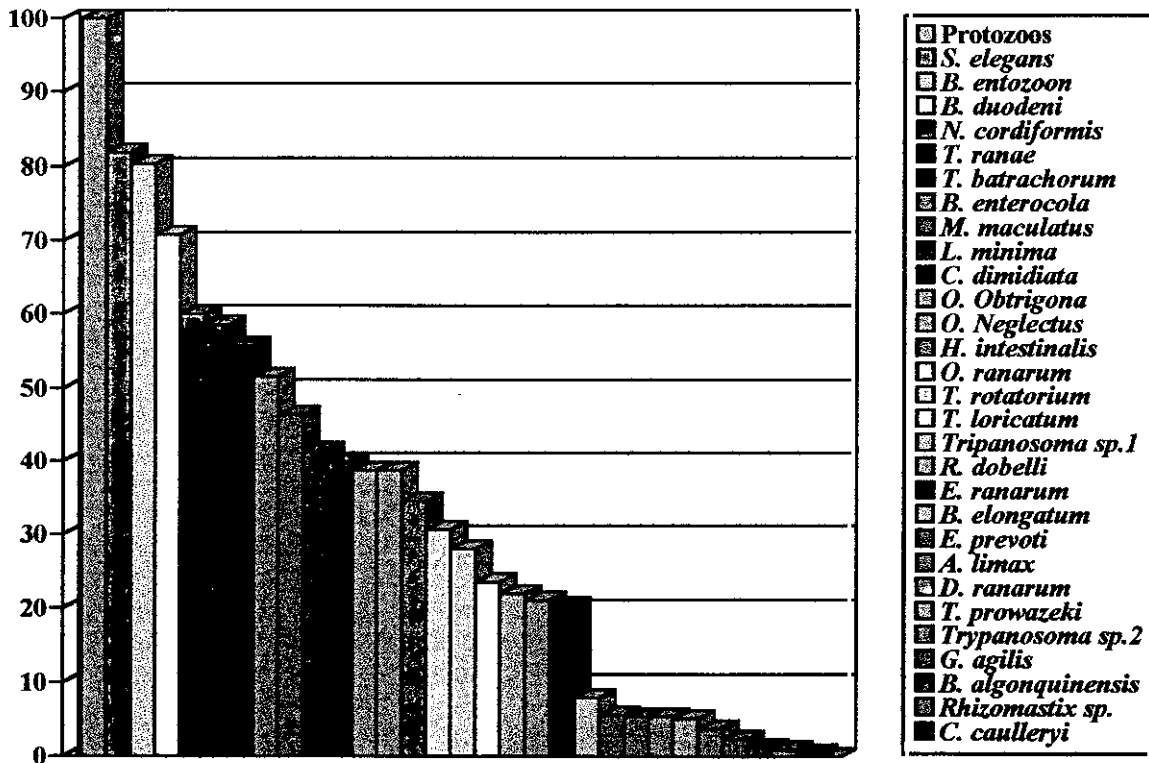
I. M.	Sexo/Edad				Estación			Localidad							Total
	HEM	MAC	RAN	REN	PRI	VER	OTO	ALB	MAR	NIH	LAG	RÍO	S.TO		
<i>G. agi.</i>	0,0	0,0	0,0	2,8	0,0	2,8	0,0	0,0	3,0	0,0	0,0	2,7	0,0	2,8	
<i>C. cau.</i>	3,0	2,0	0,0	0,0	0,0	2,5	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5	0,0	0,0	2,5	
<i>B. ente.</i>	2,4	2,2	1,0	1,0	2,5	2,2	2,3	0,0	2,6	2,3	2,1	2,3	2,4	2,3	
<i>T. ran.</i>	2,5	2,2	1,5	2,0	2,1	2,3	2,5	2,3	1,9	2,8	2,6	2,1	2,4	2,3	
<i>O. obt.</i>	2,2	2,0	2,8	1,4	1,5	2,1	2,4	1,0	1,8	2,5	2,3	1,8	2,0	2,1	
<i>B. alg</i>	2,0	1,5	0,0	0,0	3,0	2,0	1,3	0,0	0,0	1,7	2,0	3,0	1,0	2,0	
<i>E. pre.</i>	1,9	2,0	0,0	0,0	2,3	1,6	2,0	0,0	1,0	1,6	1,6	2,4	3,0	2,0	
<i>Try. sp.1</i>	1,9	2,0	1,5	0,0	1,7	2,0	2,1	2,0	1,7	1,5	2,1	2,0	01,0	1,9	
<i>O. neg.</i>	1,8	1,8	0,0	0,0	1,4	1,7	2,1	1,7	1,4	2,4	1,7	1,3	1,7	1,8	
<i>S. ele.</i>	2,0	1,7	1,4	1,0	1,6	1,6	2,3	2,4	1,3	2,4	1,8	1,6	1,6	1,8	
<i>C. dim.</i>	1,8	1,7	1,0	3,0	1,5	1,8	2,1	1,8	1,6	1,8	1,9	1,6	2,0	1,7	
<i>L. min.</i>	1,7	1,5	1,0	1,0	1,4	1,7	1,8	1,0	1,9	1,8	1,7	1,4	1,4	1,6	
<i>M. mac.</i>	1,6	1,6	1,0	1,0	1,5	1,6	1,8	1,2	1,2	2,5	1,7	1,6	1,4	1,6	
<i>A. lim.</i>	1,5	1,4	3,0	1,0	1,0	1,6	1,5	0,0	1,6	2,0	1,1	1,7	0,0	1,5	
<i>T. bat.</i>	1,5	1,4	2,3	2,3	1,3	1,6	1,4	1,2	1,6	1,3	1,5	1,5	1,0	1,5	
<i>Rhi. sp.</i>	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	1,5	
<i>R. dob.</i>	1,6	1,5	0,0	1,0	1,8	1,5	1,6	1,0	1,8	1,6	1,4	1,6	1,0	1,5	
<i>O. ran.</i>	1,4	1,4	1,0	0,0	1,4	1,4	1,3	1,1	1,4	1,1	1,3	1,5	2,0	1,4	
<i>T. rot.</i>	1,4	1,4	0,0	0,0	1,2	1,4	1,5	1,5	1,3	1,1	1,6	1,5	1,0	1,4	
<i>T. lor.</i>	1,4	1,5	1,0	0,0	1,3	1,4	1,6	1,6	1,6	1,1	1,3	1,3	1,7	1,4	
<i>Try. sp.2</i>	1,5	1,0	0,0	0,0	1,0	1,7	1,0	0,0	1,0	0,0	1,7	1,0	0,0	1,4	
<i>D. ran.</i>	1,3	1,3	0,0	0,0	1,5	1,2	2,0	0,0	1,2	1,5	1,3	1,3	1,0	1,3	
<i>B. duo.</i>	1,3	1,3	0,0	0,0	1,4	1,2	1,3	1,3	1,0	1,1	1,4	1,3	1,1	1,3	
<i>B. ento.</i>	1,3	1,2	1,0	0,0	1,3	1,2	1,3	1,2	1,0	1,5	1,3	1,2	1,0	1,3	
<i>H. int.</i>	1,3	1,2	2,0	0,0	1,2	1,2	1,4	1,6	1,2	1,2	1,2	1,2	1,3	1,2	
<i>N. cor.</i>	1,2	1,1	1,2	1,0	1,2	1,1	1,2	1,2	1,1	1,0	1,2	1,2	1,1	1,2	
<i>E. ran.</i>	1,3	1,1	0,0	1,0	1,1	1,2	1,3	1,0	1,0	1,5	1,2	1,0	1,0	1,2	
<i>B. elo.</i>	1,0	1,2	0,0	0,0	1,1	1,1	1,1	1,0	1,0	1,0	1,2	1,2	0,0	1,1	
<i>T. pro.</i>	1,0	1,1	0,0	1,0	1,0	1,1	1,0	0,0	1,0	0,0	1,0	1,1	0,0	1,0	

PREV. (%): Prevalencia (expresada en porcentaje). PROT.: Protozoos.

Hem: Hembra, Mac: Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo. Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño. Alb: Albornos, Mar: Marlin, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

S. ele.: *Spironucleus elegans*, *B. ento.*: *Balantidium entozoon*, *B. duo.*: *Balantidium duodeni*, *N. cor.*: *Nyctotheroides cordiformis*, *T. ran.*: *Trichodina ranarum*, *T. bat.*: *Trichomitus batrachorum*, *B. ente.*: *Blastocystis enterocola*, *M. mac.*: *Monocercomonas maculatus*, *L. min.*: *Lankesterella minima*, *C. dim.*: *Cepedea dimidiata*, *O. obt.*: *Opalina obtrigona*, *O. neg.*: *Octomitus neglectus*, *H. int.*: *Hexamita intestinalis*, *O. ran.*: *Opalina ranarum*, *T. rot.*: *Trypanosoma rotatorium*, *T. lor.*: *Trypanosoma loricatum*, *Try. sp.1*: *Trypanosoma sp.1*, *R. dob.*: *Retortamonas dobelli*, *E. ran.*: *Eutamoeba ranarum*, *B. elo.*: *Balantidium elongatum*, *E. pre.*: *Eimeria prevoti*, *A. lim.*: *Amebas tipo "limax"*, *D. ran.*: *Dactylosoma ranarum*, *T. pro.*: *Tetratrichomonas prowazeki*, *Try. sp.2*: *Trypanosoma sp.2*, *G. agi.*: *Giardia agilis*, *B. alg.*: *Bruglerella algonquinensis*, *Rhi. sp.*: *Rhizomastix sp. y* *C. cau.*: *Chilomastix caulleryi*.

Gráfica 3: Prevalencia de Protozoos.



4.2.2. DESCRIPCIÓN DE LOS PROTOZOOS ENCONTRADOS

4.2.2.1. *Retortamonas dobelli* Bishop, 1931

Se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal). La forma más frecuente es la piriforme aunque pueden aparecer formas desflecadas y cuando están próximos a la división, formas redondeadas. El extremo anterior es redondeado. La máxima anchura se sitúa inmediatamente detrás del núcleo y el cuerpo va disminuyendo posteriormente hasta la punta. El núcleo es esférico, envuelto por una membrana nuclear definida; está situado en el extremo anterior del cuerpo y posee un nucleolo central. En sección óptica aparece como un anillo de cromatina teñido más oscuro. En individuos que no están próximos a la división o enquistamiento, el cariosoma no está presente normalmente. En algunos se pueden apreciar gránulos irregulares de cromatina y aunque el número de flagelos no se haya incrementado, el gran tamaño del cuerpo hace suponer que la división es inminente. Tienen un gran citostoma oval cuya longitud es la mitad aproximadamente, o algo más, del cuerpo, situado en la cara ventral del núcleo y con labios bien definidos y ligeramente ondulados. El alimento es ingerido en un punto,

situado un poco por debajo del margen posterior del núcleo, aunque es difícil detectar el orificio, se crea una rápida corriente bajo el citostoma por el flagelo citostomal y hay una circulación continua de vacuolas alimenticias en el cuerpo. Posee dos flagelos: uno anterior libre, largo, muy delgado y delicado, casi tan largo o poco más que el cuerpo y otro recurrente que se sitúa en el citostoma y sobresale a alguna distancia de su margen inferior, es grueso y va disminuyendo gradualmente. Los dos flagelos se originan en un par de diminutos kinetosomas que se sitúan próximos a la cara interna del labio del extremo anterior del citostoma. Los gránulos basales, aunque pequeños, son fáciles de distinguir. El cuerpo está envuelto por una película delicada y muestra gran flexibilidad cuando se introduce entre obstáculos. No aparecen nunca movimientos ameboides. El cuerpo no presenta la torsión marcada que se aprecia en otras especies como *R. blattae* y *R. agilis*. Forman quistes ovoides o ligeramente terminados en una punta en el extremo y uninucleados.

Al aproximarse la división, el primer signo que surge es la aparición de 2 nuevos flagelos que nacen en los mismos puntos del flagelo anterior y citostomal ya existentes. No existe diferenciación en estos nuevos flagelos. El citostoma pasa de estar menos marcado a desaparecer completamente. El cuerpo del protozoo se redondea y permanece así por algún tiempo, viéndose los 2 pares de flagelos batiendo separadamente. Los núcleos son al principio esféricos, pero gradualmente llegan a ser ovoides. El flagelo citostomal parece perder sus distintivos, se hace casi recto y no es fácil distinguirlo del otro. La cromatina de la periferia llega a dispersarse por el núcleo que se tiñe intensamente.

Las formas que más frecuentemente nos hemos encontrado en las preparaciones teñidas son las redondas (Foto 10).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>R. dobelli</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	11	3
Anchura máxima	9	2
Longitud núcleo	3	1
Anchura núcleo	2	0
Flagelo 1	8	2
Flagelo 2	8	2

Medidos 10 ejemplares.

R. dobelli es un flagelado que se encuentra en menos de la cuarta parte de las ranas de Ávila ya que aparece en el 21,1% de los casos y con una intensidad media pequeña, 1,5 (Tabla 12).

Tabla 12

R. dob	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	HEM	MAC	REN	RAN	VER	PRI	OTO	MAR	LAG	RÍO	NIH	S.TO	ALB	
N° +	42	48	1	0	67	12	12	20	35	24	9	2	1	91
I.M.	1,6	1,5	1,0	0,0	1,5	1,8	1,6	1,8	1,4	1,6	1,6	1,0	1,0	1,5
P.(%)	24,1	21,0	6,7	0,0	33,5	10,6	10,1	48,8	24,6	15,8	15,3	13,3	4,3	21,1

N° +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Se puede observar en esta tabla que con relación al sexo, los valores de prevalencia e intensidad media son prácticamente iguales (ligeramente superiores en las hembras) y sin embargo, con relación a la edad, el porcentaje de parasitación es cuatro veces menor en los renacuajos, con una intensidad también inferior. En las ranitas estos valores son nulos.

Si tenemos en cuenta las estaciones del año vemos que en primavera y otoño la prevalencia es similar, pero en verano ésta se triplica, aunque su intensidad media disminuye ligeramente.

En cuanto a las localidades, estos dos valores varían considerablemente, desde el 48,8% y 1,8 de Marín, hasta el 4,3% y 1,0 de Albornos.

R. dobelli se encuentra muy distribuida por Europa y en España ha sido mencionada en *H. meridionalis* y *R. perezi* de las Islas Canarias. Nosotros la hemos encontrado en la zona llana de Ávila y por lo tanto se trata de una nueva cita de área geográfica.

4.2.2.2. *Chilomastix caulleryi* Alexeieff, 1909

Se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal). Su tamaño varía en longitud, pero es el triple de largo que de ancho (Foto 11). Está muy aplanado lateralmente y presenta una fuerte torsión que se dirige de derecha a izquierda, aunque en preparaciones teñidas no se aprecia claramente. Posee 4 flagelos. Los flagelos anteriores son desiguales, uno de ellos es casi tan largo como el propio cuerpo y los otros dos son un poco más cortos. El flagelo recurrente es más corto, se encuentra en el citostoma donde está libre y puede salir al exterior. El núcleo está situado en la parte anterior, es esférico y un poco cónico por delante. La cromatina está formada por una o dos masas semilunares adheridas a la membrana nuclear y, a veces, se aprecia un pequeño cariosoma subcentral unido a la periferia por masas cromáticas irregulares. El citoplasma parte de la región de los kinetosomas. La citofaringe es muy estrecha, se hunde en el citoplasma y normalmente penetra hasta la segunda mitad del cuerpo, en el

fondo se alarga un poco. El citoplasma está lleno de vacuolas y de bacterias ingeridas. Presenta unos quistes en forma de grano de uva.

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>C. caulleryi</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	20	3
Anchura máxima	12	2
Longitud núcleo	4	1
Anchura núcleo	3	1
Apéndice caudal	9	2
Flagelo 1	16	2
Flagelo 2	14	2
Flagelo 3	14	2
Flagelo 4 (recurrente)	12	2

Medidos 10 ejemplares.

C. caulleryi es el protozoo menos frecuente de la rana común de Ávila. Su distribución total se corresponde con el 0,5% de las ranas, sin embargo la intensidad media de parasitación es la segunda más alta de todos con un valor que alcanza el 2,5.

Este parásito sólo se ha encontrado en las ranas adultas recogidas en S. Pedro (laguna) en verano. La prevalencia entre las ranas hembras y machos es casi igual pero su intensidad media es mucho mayor en las hembras que en los machos (Tabla 13).

Tabla 13

<i>C. caulleryi</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	HEM	MAC	RAN	REN	VER	PRI	OTO	LAG	ALB	MAR	NIH	RIO	S.TO	
Nº +	1	1	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	2
I.M.	3,0	2,0	0,0	0,0	2,5	0,0	0,0	2,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5
P. (%)	0,6	0,4	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

También se encuentra muy distribuido por Europa y solamente ha sido citado en *H. meridionalis* y *R. perezii* de las Islas Canarias, por lo que también se trata de una nueva cita de área geográfica, en Ávila.

4.2.2.3. *Hexamita intestinalis* Dujardin, 1841

Se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal). Es un diplomonádido de simetría axial, con 8 flagelos (dos de ellos recurrentes y con estructuras fibrilares accesorias), 2 núcleos, y un juego doble de orgánulos accesorios. Su cuerpo es oval, con una proyección caudal corta. Los núcleos son ovales, situados en el margen anterior del cuerpo, yuxtapuestos por su porción media aplanada y sin endosoma manifiesto. Dos tubos citostómicos, relativamente estrechos, corren longitudinalmente a través del citoplasma y las aberturas posteriores se ensanchan de repente, en forma de embudo, estando relativamente distantes una de otra y separadas por una proyección caudal del cuerpo. Los flagelos recurrentes están limitados por la membrana celular, atraviesan los citostomas y continúan como flagelos largos y rastreros. No tiene ni mitocondrias ni aparato de Golgi. La fagocitosis se produce en la porción apical del citostoma (Foto 12).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>H. intestinalis</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	8	1
Anchura máxima	5	1
Longitud núcleo	2	0
Anchura núcleo	2	0
Flagelo 1	15	4
Flagelo 2	15	2
Flagelo 3	12	2
Flagelo 4 (recurrente)	12	3

Medidos 10 ejemplares.

H. intestinalis se encuentra presente en un tercio de las ranas de Ávila, con el 34,5% de prevalencia y una intensidad media de parasitación muy baja, 1,2. Esta prevalencia está dentro de los márgenes de esta especie en las ranas de América del Norte y Europa que según Desser y Jones (1985) se encuentra entre el 20 y el 40%.

Como podemos observar en la tabla 14, la prevalencia en las ranas adultas es más del doble que en las ranas jóvenes, siendo prácticamente igual entre hembras y machos, y estando ausente en los renacuajos. Sin embargo la intensidad media en las ranitas es mayor que en los adultos.

En el análisis de las estaciones refleja que en primavera se presenta el mayor porcentaje de parasitación (44,2%), mientras que en verano y otoño la parasitación disminuye situándose en el 30% aproximadamente. Por otra parte, su intensidad media viene a ser la misma durante todas las épocas del año.

A las distintas localidades les corresponden diferentes porcentaje de infección, siendo Marlín la zona de mayor prevalencia (58,5%) y S. Pedro (laguna) la menor (23,9%). Por otra parte, Albornos es la zona con mayor intensidad media.

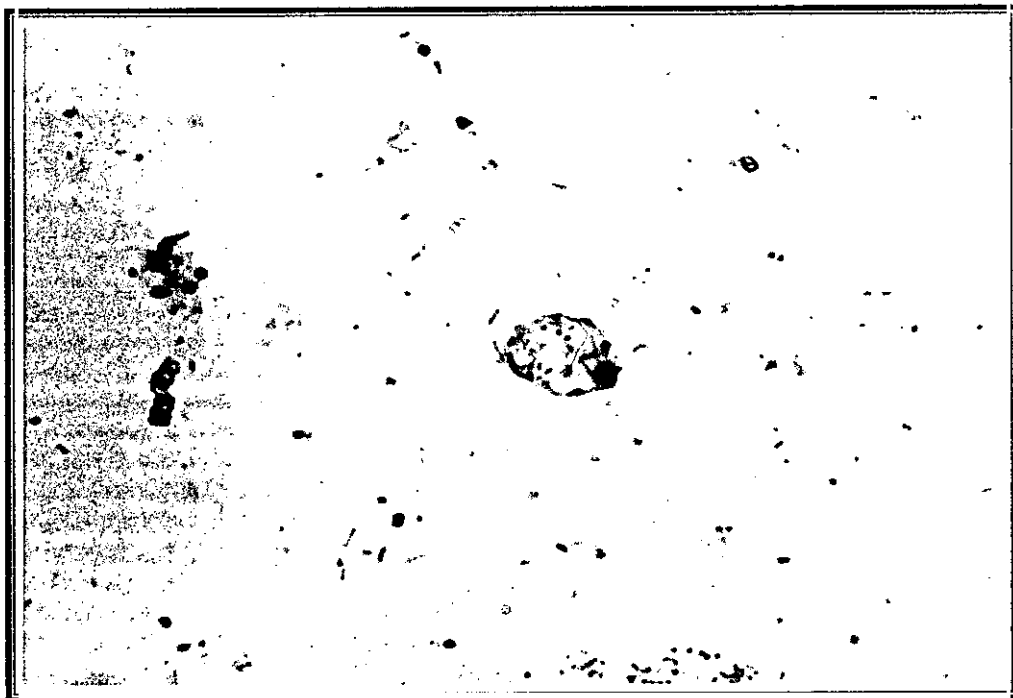


FOTO 10: *Retortamonas dobelli* (3150 x).



FOTO 11: *Chilomastix caulleryi* (3150 x).

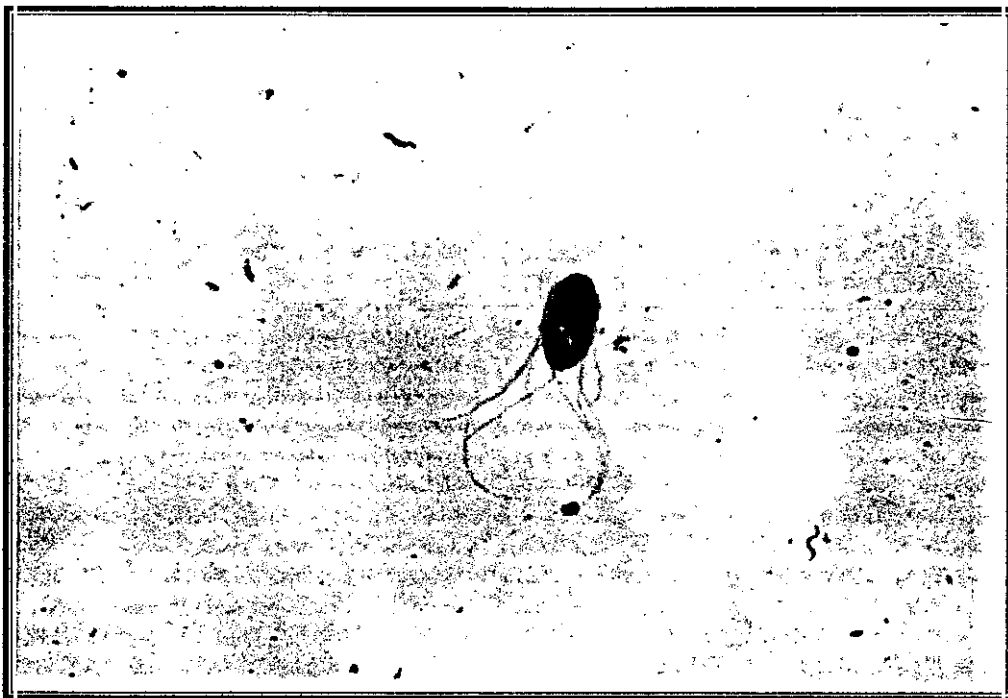


FOTO 12: *Hexamita intestinalis* (3150 x).

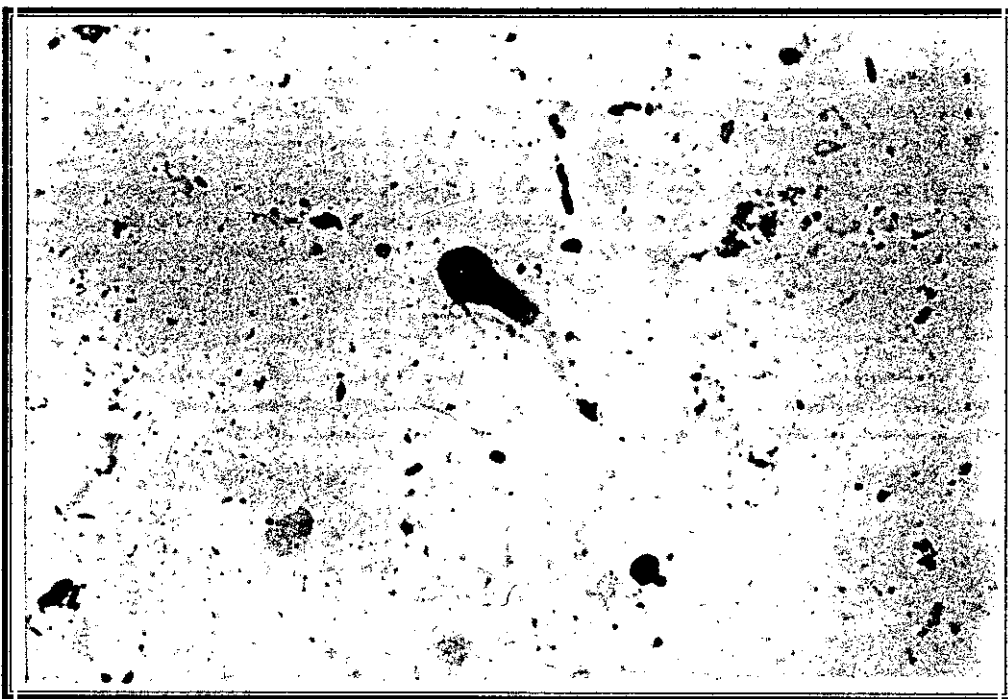


FOTO 13: *Spironucleus elegans* (3150 x).

Tabla 14

<i>H.int.</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	MAC	HEM	RAN	REN	PRI	VER	OTO	MAR	ALB	S.TO	RÍO	NIH	LAG	
Nº +	84	63	2	0	50	63	36	24	11	7	54	19	34	149
I. M.	1,2	1,3	2,0	0,0	1,2	1,2	1,4	1,2	1,6	1,3	1,2	1,2	1,2	1,2
P. (%)	36,7	36,2	14,3	0,0	44,2	31,5	30,3	58,5	47,8	46,7	35,5	32,2	23,9	34,5

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marlín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

H. intestinalis es un flagelado cosmopolita que ya ha sido citado anteriormente en la Península Ibérica en peces y en las Islas Canarias en *Hyla Meridionalis*. Nosotros la hemos encontrado en *R. Perezi* de Ávila por lo que se trata de una nueva cita de hospedador y área geográfica.

4.2.2.4. *Spironucleus elegans* Lavier, 1936

Se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal). Es un diplomonádido de simetría axial, con 8 flagelos (dos de ellos recurrentes), 2 núcleos y un juego doble de orgánulos accesorios. Tienen un cuerpo alargado que hacia la parte posterior va disminuyendo gradualmente. Los dos núcleos, con forma de judía, están próximos y adyacentes en su extremo apical, formando una forma compleja de herradura en la parte anterior del cuerpo y poseen un gran endosoma que ocupa un tercio de su volumen. La fibra supranuclear es inaparente. Presentan dos tubos citostómicos estrechos que corren próximos, longitudinalmente, por la superficie del cuerpo y se abren cerca del extremo posterior, sin formar funículos manifiestos. Los flagelos recurrentes sobresalen caudalmente de los tubos citostómicos y se continúan con una porción rastrera larga. Carece de mitocondrias y de aparato de Golgi. La fagocitosis se produce en la porción apical de los tubos citostómicos (Foto 13).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>S. elegans</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	9	1
Anchura máxima	5	1
Longitud núcleo	3	0
Anchura núcleo	1	0
Flagelo 1	14	4
Flagelo 2	16	3
Flagelo 3	16	3
Flagelo 4 (recurrente)	14	3

S. elegans es el protozoo más frecuente en la rana común de Ávila. Su distribución total se corresponde con el 81,9% de las ranas, aunque su intensidad de parasitación no es tan alta y sólo presenta un 1,8 de intensidad media (Tabla 15).

Tabla 15

<i>S. ele</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	MAC	HEM	RAN	REN	OTO	PRI	VER	ALB	NIH	S.TO	LAG	MAR	RÍO	
Nº +	200	148	5	1	103	95	156	22	56	14	119	31	112	354
I. M.	1,7	2,0	1,4	1,0	2,3	1,6	1,6	2,4	2,4	1,6	1,8	1,3	1,6	1,8
P. (%)	87,3	85,1	35,7	6,7	86,6	84,1	78,0	95,7	94,9	93,3	83,8	75,6	73,7	81,9

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo. I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3). P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

La prevalencia varía mucho con la edad, siendo muy pequeña en los renacuajos con un 6,7% y muy alta en los adultos, con un 86% aproximadamente, tanto en hembras como en machos. En las ranas jóvenes la parasitación se sitúa en el 35,7%, alrededor de un tercio de las ranitas parasitadas. La intensidad media también varía entre el 1,0 de los renacuajos y el 2,0 de las hembras.

Teniendo en cuenta las épocas del año, el porcentaje de infección varía ligeramente, siendo un poco mayor en otoño y algo más bajo en verano, con un 86,6% y 78,0% respectivamente. Su intensidad es mayor en primavera (2,3) y menor en verano y otoño (1,6).

Con relación a las localidades, la prevalencia oscila entre el 95,7% de Albornos y el 73,7% de S.Pedro (río).

S. elegans es un flagelado cosmopolita, pero su presencia en España sólo ha sido señalada en *H. meridionalis* y *R. perezi* de las Islas Canarias, por lo que nosotros la consideramos como una nueva cita de área geográfica, en Ávila.

4.2.2.5. *Brugerolleia algonquinensis* Desser, Hong, Siddall and Barta, 1993

Se localiza en la sangre, entre los glóbulos rojos y fagocitados en los macrófagos (Fotos 14 y 15). Es un diplomonádido muy pleomórfico, rápidamente cambia su forma de ovoide a piriforme, más alargado o en forma de varilla y la terminación posterior es cónica y con hoyuelos. Tiene 8 flagelos, 6 de los cuales son anteriores y emergen de la mitad anterior del cuerpo y 2 posteriores, recurrentes, que tienen su origen entre los núcleos, desde donde se extienden posteriormente, corriendo primero paralelos y después divergen antes de emerger del extremo posterior del cuerpo. Posee dos núcleos ovales, uniformemente densos y localizados en el extremo anterior redondeado del

cuerpo. No presenta ni aparato de Golgi, ni mitocondrias, ni espina caudal. No se conocen estados quísticos.

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>B. algonquinensis</i>	Media (μm)	Desviación \pm
Longitud total	9	2
Anchura máxima	8	2
Longitud núcleo	3	1
Anchura núcleo	2	1
Flagelo 1	7	1
Flagelo 2	11	3
Flagelo 3	12	3
Flagelo 4 (recurrente)	9	3

Medidos 10 ejemplares.

Las dimensiones de *B. algonquinensis* de los anfibios de Canadá son: 8-9 x 2-5 μm (media: 8,4 x 3,2 μm) y el flagelo recurrente mide sobre 1,5 veces la longitud del cuerpo. Como podemos observar nuestros ejemplares son más anchos y con un flagelo recurrente más corto que los de Canadá. Esto puede deberse a la diferente área geográfica y al distinto hospedador.

En Ávila, la prevalencia de este parásito es muy baja, 2,0% aunque mayor que en Canadá donde sólo alcanzó el 0,5% de parasitación. Su intensidad media, en Ávila, es intermedia (2,0) llegando en algunas ocasiones hasta 3,0 (Tabla 16).

Tabla 16

<i>B. alg</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	HEM	MAC	RAN	REN	OTO	VER	PRI	S.TO	NIH	LAG	RÍO	ALB	MAR	
N° +	4	2	0	0	3	2	1	1	3	1	1	0	0	5
I.M.	2,0	1,5	0,0	0,0	1,3	2,0	3,0	1,0	1,7	2,0	3,0	0,0	0,0	2,0
P. (%)	2,3	0,9	0,0	0,0	2,5	1,0	0,9	6,7	5,1	0,7	0,7	0,0	0,0	1,2

N° +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Como se muestra en la tabla, este flagelado sólo aparece en ranas adultas, siendo su porcentaje de parasitación y su intensidad mayor en las hembras que en los machos con un 2,3% y 0,9% de prevalencia así como un 2,0 y 1,5 de intensidad media respectivamente. No ha aparecido ni en ranitas ni en renacuajos.

Se ha encontrado en todas las estaciones del año analizadas, aunque en distinto porcentaje, siendo mayor en otoño y menor en primavera (2,5% y 0,9% respectivamente), pero su intensidad es inversa: mayor en primavera y menor en otoño (3,0 y 1,3 respectivamente).

Entre las ranas recolectadas de las distintas localidades sólo han aparecido *B. algonquinensis* en las de S.Tomé (6,7%), Niharra (5,1%) y en S.Pedro (0,7%). También aquí la intensidad media es inversa: mayor en S.Pedro y menor en S.Tomé.

Según Desser y col. (1993) la baja prevalencia de *B. algonquinensis*, observada en ranas de Canadá, puede ser debido a una parasitemia que surge después de una patología, cuando los flagelados entéricos invaden la mucosa intestinal y acceden a la sangre, como ocurre con otros diplomonádidos relacionados, como es el caso de *Giardia muris* y *Spiromucleus muris* en el ratón. Sin embargo, si esto fuera cierto, tendría que aparecer *B. algonquinensis* en las heces y nosotros no la hemos encontrado en ningún caso: ni cuando la infección era positiva, ni cuando era negativa en sangre. Además, si hemos encontrado, ejemplares fagocitados en macrófagos sanguíneos y hemos podido cultivarlos en los medios utilizados para tripanosomas (Foto 16), por lo que deducimos que el hábitat natural de éste flagelado es la sangre.

B. algonquinensis, hasta ahora, sólo ha sido citada en Canadá. Nosotros la hemos encontrado en *R. perezii* de Ávila, por lo que supone una nueva cita de hospedador y de área geográfica.

4.2.2.6. *Octomitus neglectus* (Lavier, 1936) Grassé, 1952

Se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal). Es un diplomonádido de simetría axial, con 8 flagelos (dos de ellos recurrentes), 2 núcleos y un juego doble de orgánulos accesorios. Su cuerpo es ancho y ovoide. Posee dos núcleos en forma de judía, colindantes en su extremo anterior y localizados en el ápice del cuerpo. Un endosoma esférico grande está situado en el lóbulo posterior, ligeramente dilatado, de cada núcleo. Las estructuras que acompañan al axonema de los flagelos recurrentes constituyen una simple columna axial, que se proyecta caudalmente. La columna se adelgaza en el segundo cuarto del cuerpo y se manifiesta posteriormente ensanchada, terminando en una punta caudal ancha y obtusa. Los flagelos poseen porciones intracitoplasmáticas de axonemas desnudos que atraviesan la vaina de la membrana celular. Los flagelos recurrentes sobresalen de la columna en el extremo posterior y continúan como flagelos rastreros, cuya longitud sobrepasa ligeramente la del cuerpo. Los citostomas están ausentes y la fagocitosis se produce en cualquier parte de la superficie del cuerpo libre de componentes fibrilares. Las mitocondrias y el aparato de Golgi están ausentes (Foto 17).



FOTO 14: *Brugerolleia algonquinensis* (3150 x). En sangre.

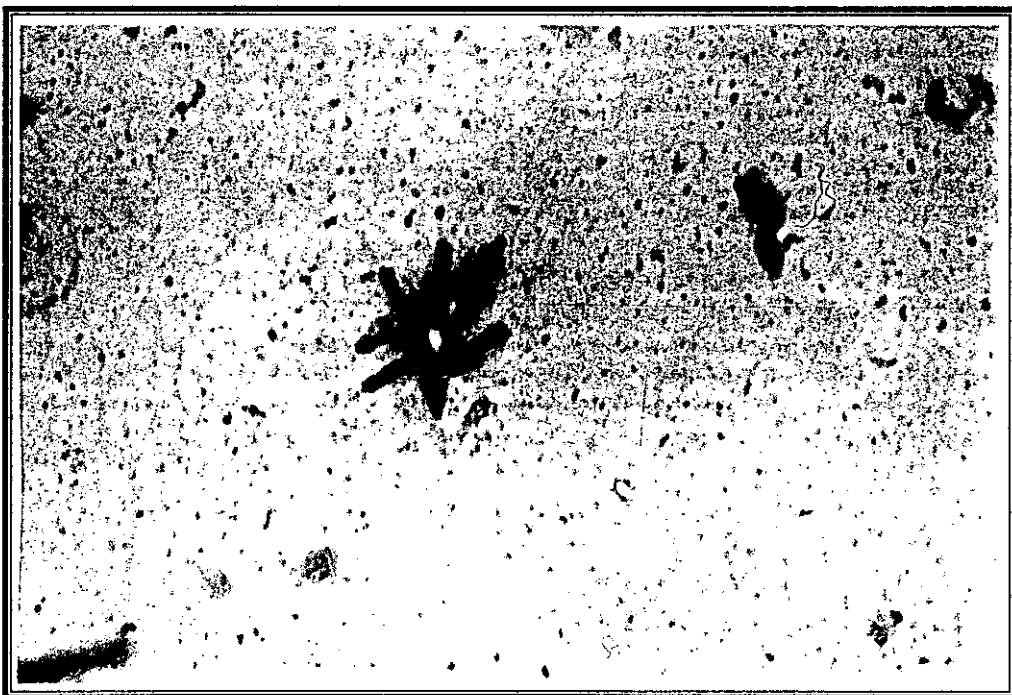


FOTO 15: *Brugerolleia algonquinensis* (3150 x). En cultivo.



FOTO 16: *Brugerolleia algonquinensis* (3150 x). En macrófagos (fagocitada).



FOTO 17: *Octomitius neglectus* (3150 x).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>O. neglectus</i>	Media: (µm)	Desviación ±
Longitud total	9	2
Anchura máxima	8	2
Longitud núcleo	3	1
Anchura núcleo	2	1
Flagelo 1	7	1
Flagelo 2	11	4
Flagelo 3	12	3
Flagelo 4 (recurrente)	9	3

Medidos 10 ejemplares.

O. neglectus se encuentra en poco más de la tercera parte de las ranas de Ávila, con un 38,7% de prevalencia y un 1,8 de intensidad media (Tabla 17).

Tabla 17

O. neg.	Sexo/Edad				Estación			Localidad					Total	
	HEM	MAC	RAN	REN	OTO	VER	PRI	NIH	LAG	MAR	ALB	S.TO		RÍO
Nº +	78	89	0	0	58	87	22	36	81	17	9	3	21	167
I. M.	1,8	1,8	0,0	0,0	2,1	1,7	1,4	2,4	1,7	1,4	1,7	1,7	1,3	1,8
P. (%)	44,8	38,9	0,0	0,0	48,7	43,5	19,5	61,0	57,0	41,5	39,1	20,0	13,8	38,7

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Este flagelado sólo ha aparecido entre las ranas adultas, siendo su porcentaje de parasitación algo mayor en las hembras (44,8%), en comparación con los machos (38,9%), pero su intensidad media es igual en ambos casos (1,8).

Según las distintas épocas del año, primavera es la de menor prevalencia con un 19,5% de parasitación y aumenta a más del doble en verano (43,5%) y otoño (48,7%). Su intensidad media también va aumentando a lo largo del año.

Teniendo en cuenta las localidades, el porcentaje de infección y su intensidad varía notablemente entre unas y otras, siendo S.Pedro (río) la localidad con valores más bajos (13,8% y 1,3 respectivamente) y Niharra, la de más altos valores (61,0% y 2,4 respectivamente).

O. neglectus se ha encontrado por toda Europa y en España sólo ha sido citada en *H. meridionalis* y *R. perezii* de las Islas Canarias, por lo que Ávila supone una nueva cita de área geográfica.

4.2.2.7. *Giardia agilis* Kunstler, 1882

Se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal). Es un diplomonádido de simetría bilateral, con 8 flagelos (dos de ellos recurrentes), 2 núcleos, y un juego doble de orgánulos accesorios. Su cuerpo es redondeado anteriormente y puntiagudo en la parte posterior. Poseen un disco adhesivo que es un órgano de fijación situado en la superficie aplanada ventral de cuerpo, que es de contorno circular y da forma de domo a una cámara ventral cóncava. El margen posterior del disco está interrumpido por una profunda escisión formando una entrada en el borde. Este orificio muestra un surco poco profundo, en forma de cuña, en la superficie ventral de la región caudal del cuerpo (surco ventrocaudal). Tiene dos núcleos ovales, cada uno con un gran cariosoma, situados dorsalmente al disco adhesivo, y relativamente distantes del margen de la parte anterior del cuerpo y entre sí. Los flagelos se originan en el complejo kinetosomal situado en la línea media, entre los núcleos. De los 8 flagelos, 2 emergen ventralmente y están localizados en el surco ventrocaudal, 2 son anteriores, 2 posteriores y 2 caudales, y todos poseen porciones intracitoplasmáticas de axonemas desnudos que atraviesan la vaina de la membrana celular. El aparato parabasal se presenta como una varilla o una pequeña maza cromática, de estructura homogénea, que parece fijarse a un gránulo situado sobre la trayectoria de las raíces del 4º par flagelar y de aproximadamente 1/5 de la longitud del cuerpo. Se sujeta dorsalmente tocando estas raíces, a veces, tan íntimamente que es difícil distinguirlas. Los citostomas están ausentes y la fagocitosis se produce en cualquier parte de la superficie del cuerpo libre de componentes fibrilares. Carece de mitocondrias y aparato de Golgi (Foto 18).

Forma quistes esféricos, con medidas comprendidas entre 7,87-8,55 x 6,88-7,87 µm (media = 7,62 x 8,36 µm). Poseen una cubierta muy gruesa que se tiñe intensamente y en su interior se aprecian los núcleos de color rojo que pueden ser: 2, de forma arriñonada (posiblemente por encontrarse en estado de división), en los no maduros o 4, de forma oval y un tamaño de 0,98-1µm, en los maduros. El citoplasma se tiñe de color violeta grisáceo oscuro por Giemsa y en los quistes jóvenes se observan filamentos rojizos desordenados, posiblemente residuos de los flagelos o estructuras fibrilares de los trofozoítos.

Este parásito sólo se encuentra en renacuajos y la infección desaparece cuando tiene lugar la metamorfosis.

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>G. agilis</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	18	2
Anchura máxima	5	0
Longitud núcleo	1	0
Anchura núcleo	1	0
Flagelo 1	14	2
Flagelo 2	15	3
Flagelo 3	14	3
Flagelo 4 (recurrente)	19	3

Medidos 10 ejemplares.

G. agilis es uno de los protozoos menos frecuente en la rana común de Ávila, con una prevalencia del 2,3%, pero su intensidad es la más alta de todos los protozoos encontrados, con un 2,8 de intensidad media (Tabla 18).

Se ha podido observar que este flagelado sólo se encuentra en renacuajos en un alto porcentaje e intensidad media (73,3% y 2,8 respectivamente) y antes de que éstos se conviertan en ranitas desaparecen.

Solamente se han recogido renacuajos en verano y en las localidades de Marlín y S. Pedro (río).

Tabla 18

G. agi	Sexo/Edad			Estación						Localidad				Tota
	REN	HEM	MAC	RAN	VER	PRI	OTO	MAR	RÍO	ALB	LAG	NIH	S.TO	
Nº +	11	0	0	0	11	0	0	5	6	0	0	0	0	10
I.M.	2,8	0,0	0,0	0,0	2,8	0,0	0,0	3,0	2,7	0,0	0,0	0,0	0,0	2,8
P. (%)	73,3	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0	0,0	12,1	3,9	0,0	0,0	0,0	0,0	2,3

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marlín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

G. agilis se encuentra muy distribuido por todo el mundo y en España ha sido citada en *H. meridionalis* y *R. perezii* de las Islas Canarias, por lo que consideramos a Ávila como una nueva cita de área geográfica.

4.2.2.8. *Monocercomonas maculatus* Carrera-Moro, 1987

Se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal). Su forma es variada: entre esférica, piriforme u ovalada. El citoplasma no se tiñe uniformemente, presentando 2 zonas de máculas grandes y redondeadas, una en la parte anterior y otras en la parte posterior del cuerpo, que se tiñen intensamente de violeta por Giemsa. En las formas ovaladas aparece una constricción en la parte media del cuerpo. En las formas más redondeadas, las máculas, pueden no aparecer netamente definidas en sus extremos, sino dispersadas por todo el cuerpo, quizás por estar más extendidos o por encontrarse en una fase distinta de desarrollo. En el citoplasma se aprecian también gránulos dispersos, así como alguna vacuola. Los kinetosomas situados en el extremo anterior del cuerpo dan origen a 3 flagelos anteriores y un flagelo recurrente. Uno de los flagelos es más corto, los otros 2 flagelos anteriores son casi de igual longitud, y aproximadamente tan largos como el cuerpo o un poco más. Los 3 flagelos generalmente se presentan juntos en un haz y corren próximos entre sí. El flagelo recurrente es más largo, siendo de 1.5 a 2 veces la longitud del cuerpo y parece estar fijado a la superficie del cuerpo antes de quedar libre. No se observa ni pelta ni filamentos accesorios. El axostilo es fino e hialino, sobresale por la parte inferior y termina en una punta cónica. No se aprecian gránulos endoaxostilares ni anillo cromático periaxostilar. El núcleo es relativamente grande, de forma redondeada o irregular y se tiñe de color rosa claro, diferenciándose de las máculas anteriores que se tiñen de color violeta intenso (Foto 19).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>M. maculatus</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	11	1
Anchura máxima	8	3
Longitud núcleo	3	1
Anchura núcleo	2	1
Flagelo 1	17	1
Flagelo 2	16	1
Flagelo 3	12	2
Flagelo 4 (recurrente)	21	2
Axostilo	5	4

Medidos 10 ejemplares.

M. maculatus es un flagelado frecuente en Ávila ya que se encuentra en casi la mitad de las ranas estudiadas, con un 46,3% de prevalencia y una intensidad baja, el 1,6 (Tabla 19).

Tabla 19

M. mac.	Sexo/Edad				Estacion			Localidad					Total	
	MAC	HEM	REN	RAN	VER	PRI	OTO	LAG	MAR	S.TO	RÍO	ALB		NIH
N° +	117	78	3	2	112	55	33	87	23	8	74	6	2	200
I. M.	1,6	1,6	1,0	1,0	1,6	1,5	1,8	1,7	1,2	1,4	1,6	1,2	2,5	1,6
P. (%)	51,1	44,8	20,0	14,3	56,0	48,7	27,7	61,3	56,1	53,3	48,7	26,1	3,4	46,3

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Martín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Este parásito aparece a cualquier edad de la rana aunque más en adultos que en jóvenes, siendo los machos los que presentan un porcentaje de parasitación más alto (51,1%) y en las ranitas el porcentaje es menor ya que sus valores alcanzan tan sólo un 14,3%. Su intensidad también es mayor en los adultos que en los jóvenes, (1,6 y 1,0 respectivamente).

Teniendo en cuenta las distintas estaciones del año, podemos ver que en verano la prevalencia es el doble que en otoño y algo inferior en primavera, y sin embargo su intensidad es mayor en otoño y menor en primavera y verano.

También podemos observar que el porcentaje de infección y su intensidad varía mucho dependiendo de las distintas localidades, encontrándonos valores desde el 61,3% en S. Pedro (laguna) hasta el 3,4 % en Niharra, aunque con una mayor intensidad media.

M. maculatus es una especie originariamente descrita y citada en España, por Carrera y col. (1987) en *H. meridionalis* y *R. perezii* de las Islas Canarias. Nosotros la consideramos como una nueva cita de área geográfica, en Ávila.

4.2.2.9. *Trichomitus batrachorum* (Perty, 1852) Honigberg, 1963

Se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal). Su cuerpo es oval o piriforme, relativamente delgado y la región terminal del cuerpo va disminuyendo gradualmente hacia una punta. Tiene 3 flagelos anteriores generalmente de desigual longitud. Posee una membrana ondulante de longitud, altura y número de ondulaciones variable, fuertemente unida al axonema y queda libre por detrás formando la porción libre del flagelo posterior. El axostilo tiene forma de huso, se proyecta a una considerable distancia del extremo posterior del cuerpo y no contiene ni gránulos axostilares ni anillos periaxostilares. La costa es muy delgada y a menudo acompañada de un arco de gránulos. El órgano parabasal es difícil de apreciar excepto por impregnación argéntica, tiene dos ramas que parten del blefaroplasto en forma de "V" invertida y en cada una hay congregada una variable cantidad de material parabasal. Finalmente, encima del blefaroplasto y sólo vista en impregnación argéntica, hay una pelta en forma de media luna. El núcleo es oval, anterior y con cariosoma. Es muy activo, con movimientos

desiguales, pero a veces se inmoviliza por largos periodos de tiempo, doblándose o enroscándose sobre su axostilo formando pseudoquistes o quistes verdaderos según los distintos autores (Foto 20).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>T. batrachorum</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	11	3
Anchura máxima	8	3
Longitud núcleo	4	1
Anchura núcleo	3	1
Flagelo 1	17	1
Flagelo 2	15	2
Flagelo 3	10	1
Flagelo 4 (recurrente)	9	2
Axostilo	10	3

Medidos 10 ejemplares.

Según estudios recientes sobre *T. batrachorum* se ha sugerido la posibilidad de que se encuentre más de una especie morfológica de *Trichomitus*. Los caracteres diferenciales serían: la relativa longitud y grado de desarrollo de la membrana ondulante así como detalles de la estructura del axostilo y del aparato parabasal. Nosotros, con el microscopio óptico, sí hemos podido observar distintos tamaños entre los ejemplares de esta especie, pero no hemos podido llegar a más.

Hemos conseguido cultivar a este flagelado en medio Loeffler obteniendo un abundante crecimiento (Foto 21).

T. batrachorum es otra especie común en la rana común de Ávila, con más de la mitad de las ranas parasitadas, pero con una intensidad media baja, 55,8% y 1,5 respectivamente (Tabla 20).

Tabla 20

<i>T. bat</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	MAC	HEM	REN	RAN	VER	PRI	OTO	MAR	LAG	S.TO	ALB	RÍO	NIH	
Nº +	143	89	6	3	133	55	53	33	97	9	12	77	13	241
I. M.	1,4	1,5	2,3	2,3	1,6	1,3	1,4	1,6	1,5	1,0	1,2	1,5	1,3	1,5
P. (%)	62,4	51,1	40,0	21,4	66,5	48,7	44,5	80,5	68,3	60,0	52,2	50,7	22,0	55,8

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.



FOTO 18: *Giardia agilis* (3150 x).

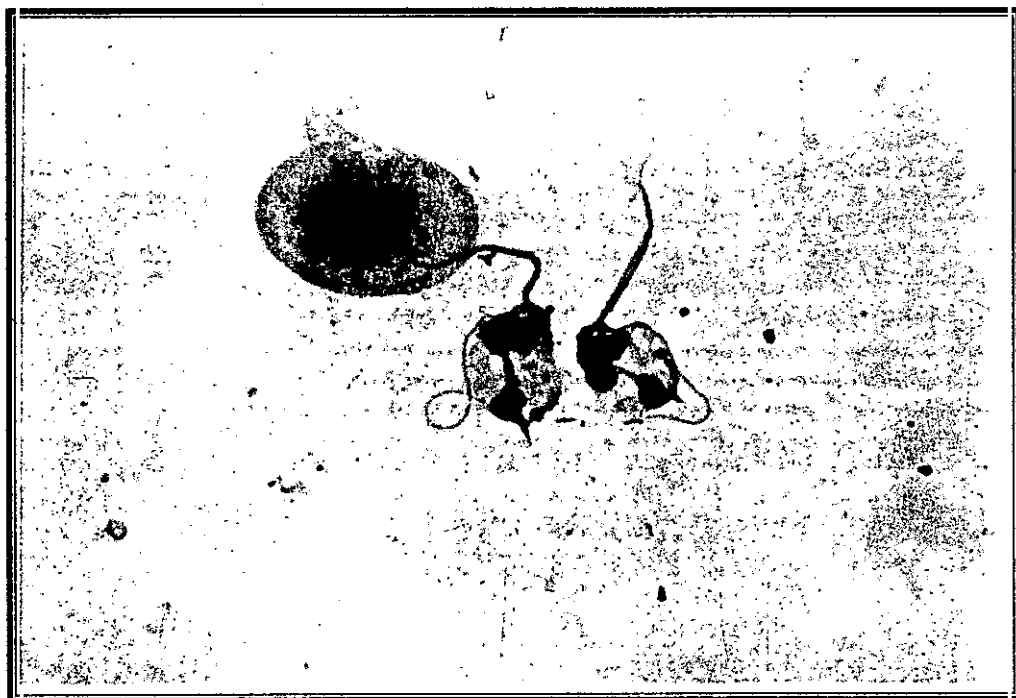


FOTO 19: *Monocercomonas maculatus* (3150 x).



FOTO 20: *Trichomitrus batrachorum* (3150 x).

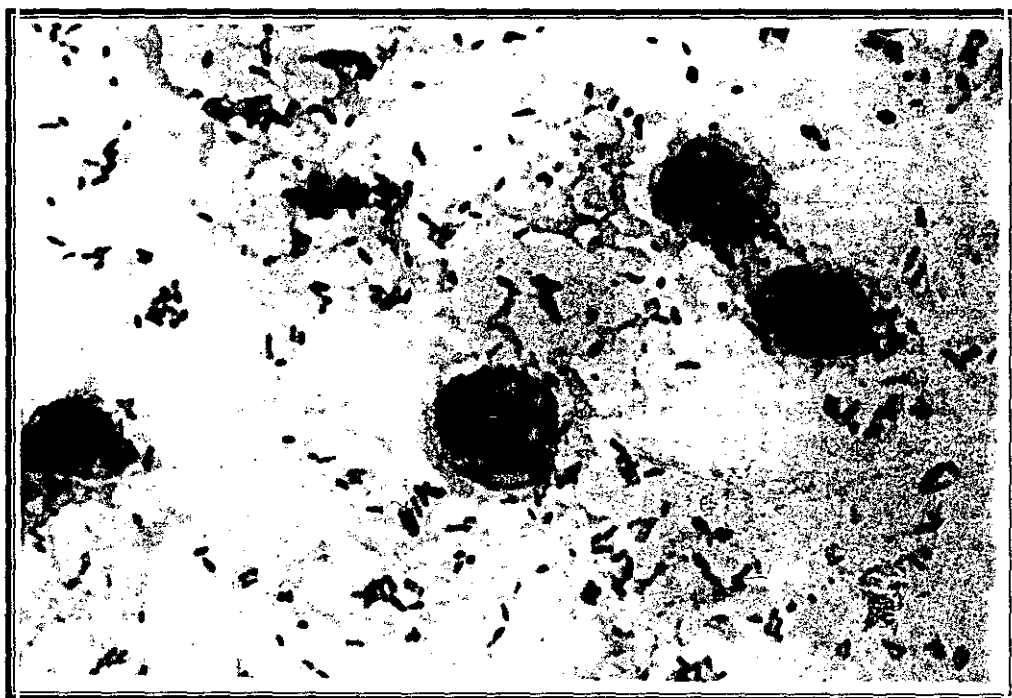


FOTO 21: *Trichomitrus batrachorum* (3150 x). En cultivo.

Como se puede observar en esta tabla este flagelado aparece en casi la cuarta parte de las ranitas (21,4%), aumenta al doble en los renacuajos (40%) y al triple en los machos (62,4%). En las hembras es algo menor que en los machos, con un 51,1% de parasitación. La intensidad media, por el contrario, es mayor en los juveniles (ranas y renacuajos) que en los adultos (1,4 y 2,3 respectivamente).

Con respecto a los periodos del año, verano es la estación de mayor prevalencia, con un 66,5%, seguida de primavera con un 48,7% y por último otoño, con un 44,5% de parasitación, aunque su intensidad media es semejante durante todo el año.

También se puede observar que el porcentaje de infección varía mucho según la localidad de la que se trate, siendo muy superior en Marín, con un 80,5% y muy inferior en Niharra, con un 22%, manteniéndose más o menos constante en el resto de las localidades (alrededor del 55%).

Tiene una amplia distribución mundial pero en España sólo ha sido nombrada en *H. meridionalis* y *R. perezi* de las Islas Canarias, por lo que nosotros la denunciaremos como nueva cita de área geográfica, en Ávila.

4.2.2.10. *Tetratrichomonas prowazeki* (Alexeieff, 1909) Alexeieff, 1911

Se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal). Su cuerpo es piriforme u oval. El núcleo está unido a un blefaroplasto por un rizoplasto extremadamente delgado, del cual parten 4 flagelos anteriores libres, 2 de ellos más cortos que el resto. Presenta una membrana ondulante bien desarrollada, recorrida por 2 filamentos, que se extiende sobre la longitud total del cuerpo y queda libre por detrás formando la porción libre del flagelo posterior, sin extensiones ventrolaterales manifiestas y continuando anteriormente en una pelta en la mayoría de los casos estrecha. El axostilo es normalmente delgado, sin gránulos axostilares ni anillos paraaxostilares y se proyecta por alguna distancia del extremo posterior del cuerpo. El cuerpo parabasal tiene forma de disco y con un gránulo central constante bien definido, asociado con uno o dos filamentos. Es fagotrófica y captura el alimento por extensión rápida y recogida de pseudópodos filamentosos en el extremo posterior del cuerpo (Foto 22). Se reducen por fisión longitudinal binaria y no forman quistes.

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>T. prowazeki</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	10	2
Anchura máxima	7	2
Longitud núcleo	4	1
Anchura núcleo	2	0
Flagelo 1	16	2
Flagelo 2	15	2
Flagelo 3	11	2
Flagelo 4	10	2
Flagelo 5 (recurrente)	6	1
Axostilo	9	2

T. prowazeki es uno de los protozoos con muy baja prevalencia, el 5,1% y el de menor intensidad media encontrado en la rana común de Ávila (1,0) (Tabla 21). Sin embargo, estos datos son muy relativos porque este flagelado es muy parecido a *Trichomitus batrachorum*, del que se distingue por unas estructuras internas que sólo pueden ser vistas en el microscopio electrónico y por sus cuatro flagelos anteriores, los cuales sólo se pueden contar si éstos no permanecen unidos en la preparación, que suele ser lo más frecuente.

Tabla 21

T. pro	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	REN	HEM	MAC	RAN	PRI	VER	OTO	MAR	RÍO	LAG	ALB	NIH	S.TO	
Nº +	1	10	11	0	8	13	1	9	7	6	0	0	0	22
I. M.	1,0	1,0	1,1	0,0	1,0	1,1	1,0	1,0	1,1	1,0	0,0	0,0	0,0	1,0
P. (%)	6,7	5,7	4,8	0,0	7,1	6,5	0,8	22,0	4,6	4,2	0,0	0,0	0,0	5,1

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Como se puede ver, *T. prowazeki* no se ha encontrado en ranitas, pero sí en renacuajos, con una prevalencia ligeramente mayor que en los adultos (6,7%) y dentro de éstos, son las hembras las que presentan una prevalencia también ligeramente mayor que los machos (5,7% y 4,8% respectivamente).

Con relación a las estaciones, las que presentan un mayor porcentaje de parasitación son primavera y verano con alrededor de un 7% y la de menor porcentaje es otoño con tan sólo el 0,8% de prevalencia.

En las únicas localidades donde ha aparecido este flagelado es en Marín con el 22,0% y en S. Pedro con algo más del 4%.

T. prowazeki ha sido citada en algunas zonas del mundo y también en España en *H. meridionalis* y *R. perezi* de las Islas Canarias. Nosotros la hemos encontrado en Ávila por lo que supone una nueva cita de área geográfica.



FOTO 22: *Tetratrichomonas prowazeki* (3150 x).



FOTO 23: *Trypanosoma* sp. (3150 x). En cultivo.

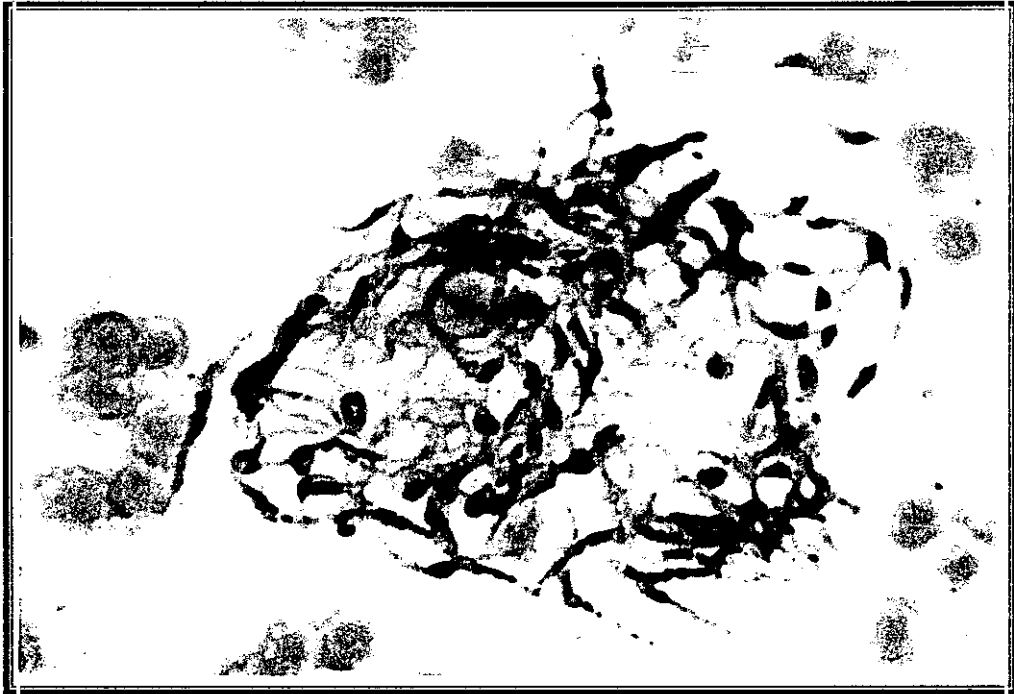


FOTO 24: *Trypanosoma* sp. (3150 x). En cultivo.

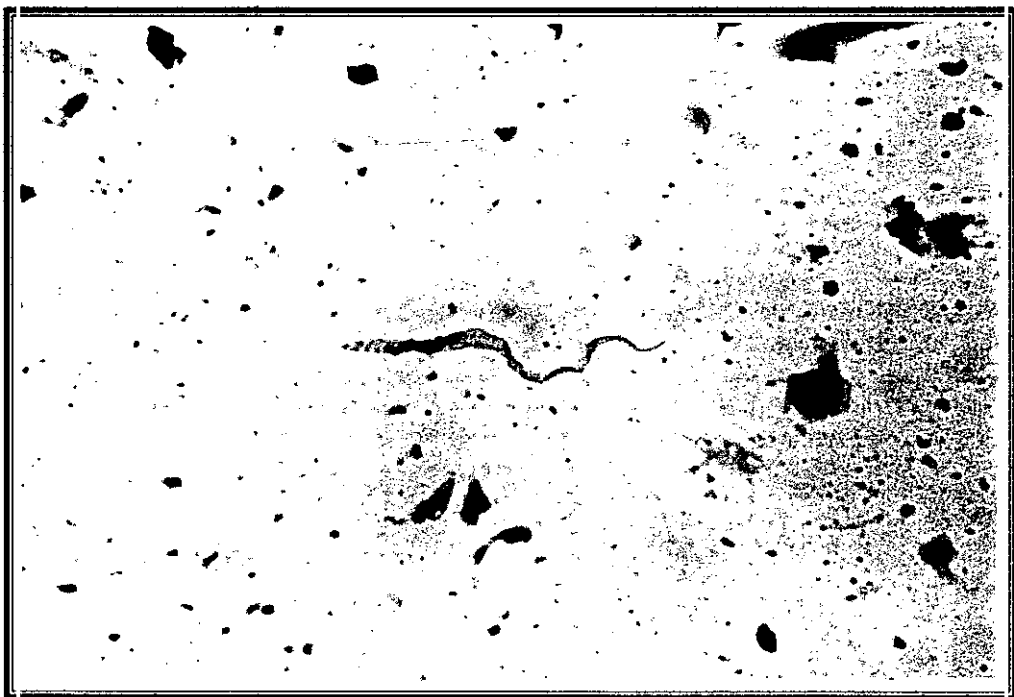


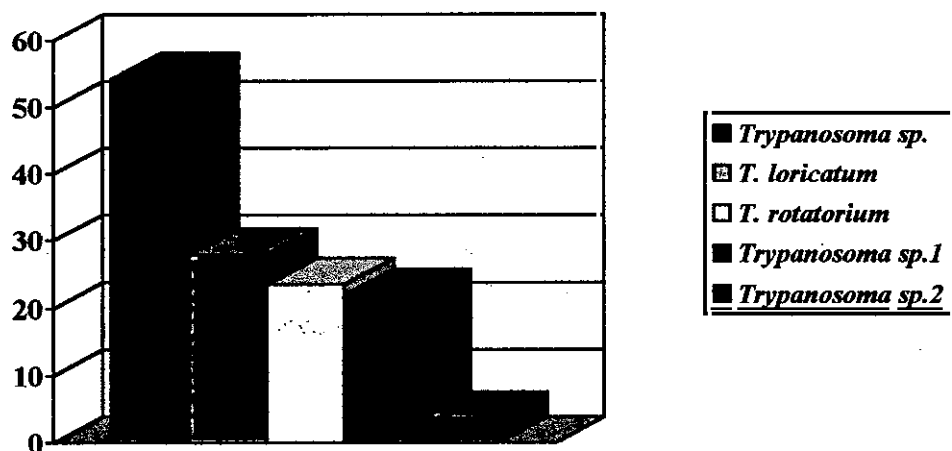
FOTO 25: *Trypanosoma* sp. (3150 x). En sanguijuela.

4.2.2.11. Género *Trypanosoma* Gruby, 1843

Hemos identificado en la sangre, un total de 4 especies de *Trypanosoma*: dos de ellas ya descritas y otras dos posiblemente nuevas:

1. *Trypanosoma rotatorium* Mayer, 1843.
2. *Trypanosoma loricatum* Mayer, 1843.
3. *Trypanosoma* sp.1.
4. *Trypanosoma* sp.2.

Gráfica 4: Prevalencia de Tripanosomas.



De las ranas estudiadas, aproximadamente la mitad (234) resultaron estar parasitadas por *Trypanosoma* spp., lo que supone una prevalencia del 54,2%. Esta infección puede ser, en orden decreciente: simple (por una sola especie de *Trypanosoma*), doble (por dos especies), triple (por tres) o cuádruple (por las cuatro) (Tabla 22).

Tabla 22

TRIPANOSOMAS	Nº Ranas	%
SIN INFECTAR	198	45,8
SIMPLE (<i>Trypanosoma</i> spp.):	143	33,1
<i>T. loricatum</i>	57	13,2
<i>Trypanosoma</i> sp.1	47	10,9
<i>T. rotatorium</i>	39	9,0
<i>Trypanosoma</i> sp.2	1	0,2
DOBLE:	78	18,1
<i>T. rotatorium</i> + <i>T. loricatum</i>	40	9,6
<i>T. loricatum</i> + <i>Trypanosoma</i> sp.1	16	3,7
<i>T. rotatorium</i> + <i>Trypanosoma</i> sp.1	14	3,2
<i>Trypanosoma</i> sp.1 + <i>Trypanosoma</i> sp.2	10	2,4
<i>T. loricatum</i> + <i>Trypanosoma</i> sp.2	1	0,2
TRIPLE:	12	2,8
<i>T. rotatorium</i> + <i>T. loricatum</i> + <i>T. sp.1</i>	5	1,2
<i>T. rotatorium</i> + <i>T. sp.1</i> + <i>T. sp.2</i>	2	0,5
<i>T. rotatorium</i> + <i>T. loricatum</i> + <i>T. sp.2</i>	1	0,2
CUÁDRUPLE	1	0,2
TOTAL INFECTADAS	234	54,2

Las especies más frecuentes por orden decreciente fueron: *T. loricatum*, *T. rotatorium*, *T. sp.1* y *T. sp.2* y las de mayor intensidad fueron: *T. sp.1*, *T. rotatorium*, *T. loricatum* y *T. sp.2*. En la tabla 23 y gráfica 4 se muestra la prevalencia y en la tabla 24 la intensidad media.

Tabla 23

Prevalencia (%)	<i>T. lor.</i>	<i>T. rot.</i>	<i>T. sp.1</i>	<i>T. sp.2</i>	<i>T. spp.</i>
SEXO/EDAD					
MACHOS	27,6	30,5	18,4	2,9	58,5
HEMBRAS	31,0	21,4	26,6	4,8	55,7
RANITAS	14,3	0,0	14,3	0,0	21,4
RENACUAJOS	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
ESTACIÓN					
PRIMAVERA	31,5	27,5	19,0	4,5	60,2
VERANO	35,4	18,6	27,4	2,7	60,0
OTOÑO	15,1	21,8	21,8	3,4	38,7
LOCALIDAD					
S.TOMÉ	13,0	8,7	0,0	0,0	93,3
NIHARRA	21,1	11,3	23,9	6,3	76,3
MARLÍN	36,6	34,1	14,6	0,0	65,9
RÍO	25,4	37,3	49,2	6,8	53,9
LAGUNA	30,9	24,3	16,4	2,0	44,4
ALBORNOS	73,3	73,3	6,7	0,0	13,0
TOTAL					
432 RANAS	28,0	23,6	22,0	3,7	54,2

T. lor.: *Trypanosoma loricatum*.

T. rot.: *Trypanosoma rotatorium*.

T. sp.1: *Trypanosoma sp.1*.

T. sp.2: *Trypanosoma sp.2*.

T. spp: *Trypanosoma spp.*

Los primeros datos relevantes de la tabla nos muestran que algo más de la mitad de las ranas están parasitadas por tripanosomas, en total el 54,2%.

Con respecto a la edad y sexo, los adultos son los que presentan una mayor prevalencia siendo ligeramente superior en el caso de los machos que en el de las hembras (58,5% y 55,7% respectivamente) y más del doble que en las ranitas (21,4%). Los renacuajos no tienen tripanosomas, esto puede ser debido a que las sanguijuelas (vector de los tripanosomas) no se alimentan de ellos, por su pequeño tamaño.

En cuanto a la estación del año, se puede observar que la prevalencia es muy semejante en verano y primavera, con el 60% de parasitación, mientras que en otoño el porcentaje disminuye considerablemente hasta el 38,7%.

Sin embargo, las localidades muestran un grado mayor de variación en su prevalencia, siendo las de mayor porcentaje S.Tomé (93,3%) y Niharra (76,3%). Con una parasitación intermedia se encuentran Marlín y S.Pedro y con bajo porcentaje está Albornos (13,0). Esta variación tan grande entre las localidades puede deberse a factores biológicos, especialmente a la presencia o ausencia de sus hospedadores intermediarios.

Tabla 24

Intensidad Media	T. sp.1	T. rot	T. lor.	T. sp.2
SEXO/EDAD				
MACHOS	2,0	1,4	1,5	1,0
HEMBRAS	1,9	1,4	1,4	1,5
RANITAS	1,5	0,0	1,0	0,0
RENACUAJOS	0,0	0,0	0,0	0,0
ESTACIÓN				
PRIMAVERA	1,7	1,2	1,3	1,0
VERANO	2,0	1,4	1,4	1,7
OTOÑO	2,1	1,5	1,6	1,0
LOCALIDAD				
S.TOME	0,0	1,0	1,7	0,0
NIHARRA	2,1	1,6	1,3	1,7
MARLIN	1,5	1,1	1,1	0,0
RÍO	2,0	1,5	1,3	1,0
LAGUNA	1,7	1,3	1,6	1,0
ALBORNOS	2,0	1,5	1,6	0,0
TOTAL				
432 RANAS	1,9	1,4	1,4	1,4

T. lor.: *Trypanosoma loricatum*.

T. rot.: *Trypanosoma rotatorium*.

T. sp.1: *Trypanosoma* sp.1.

T. sp.2: *Trypanosoma* sp.2.

Según Lun y Desser (1996), un análisis de aislados de tripanosomas de anuros usando "random amplified polymorphic DNA" reflejan una alta similaridad entre los aislados de una misma especie y localización geográfica y un polimorfismo pronunciado entre los de distinta localización geográfica.

Se han podido cultivar tripanosomas en un medio líquido especial para *T. rotatorium* y tripanosomas de urodelos. En este medio sólo han aparecido formas epimastigotes, pero no sabemos a que especie pertenecen ya que en la sangre fresca de la rana había varias especies de tripanosomas y posteriormente en el cultivo todos los epimastigotes tenían más o menos la misma forma y tamaño (Fotos 23 y 24). En la sanguijuela (*Batrachobdella algira*) también han aparecido en forma epimastigote semejante a la del cultivo, por lo que tampoco sabemos de qué especie se trata y las consideramos como *Trypanosoma* sp (Fotos 25 y 26).

Los resultados biométricos de nuestras especies se exponen en las siguientes tablas:

<i>Trypanosoma</i> sp. (en cultivo)	Media (μm)	Desviación \pm
Longitud total	34	13
Anchura máxima	2	0
Longitud núcleo	3	1
Anchura núcleo	1	1
Dist. Núcleo-Kinetoplasto	0	1
Dist. Kinetoplasto-Ext. Posterior	14	5
Flagelo 1	9	2

<i>Trypanosoma</i> sp. (en sanguijuela)	Media (μm)	Desviación \pm
Longitud total	23	4
Anchura máxima	1	0
Longitud núcleo	2	1
Anchura núcleo	1	0
Dist. Núcleo-Kinetoplasto	1	1
Dist. Kinetoplasto-Ext. Posterior	7	2
Flagelo 1	5	2

Medidos 10 ejemplares.

Hasta ahora, en la Península Ibérica no habían sido citados tripanosomas de anfibios de ninguna especie, por lo que todos los nuestros son nuevas citas de hospedador y de área geográfica, además de las citas de especies nuevas que expondremos a continuación.

4.2.2.11.1. *Trypanosoma rotatorium* Mayer, 1843

Se localiza en la sangre, entre los glóbulos rojos. Es un tripanosoma ancho, con un cuerpo elíptico y terminación posterior redondeada. Tiene un núcleo prominente y fusiforme que ocupa aproximadamente un tercio del total de la longitud del cuerpo. El núcleo está punteado en ambas terminaciones y es paralelo al eje longitudinal del cuerpo. Presenta una cromatina granular en los polos del núcleo que se tiñen más densamente que el resto y a menudo se aprecian estructuras redondeadas teñidas pálidamente dentro de estos polos. Un pequeño kinetoplasto ovalado está localizado cerca de la terminación posterior del cuerpo. Tiene una membrana ondulante muy notable formada por 5-9 ondulaciones de gran amplitud y un flagelo libre largo, aunque a veces no se aprecia bien (Foto 27).

Desser (1976) describió este tripanosoma en la sanguijuela, *Batrachobdella picta* de Canadá. Se encuentran en forma epimastigote formando masas esféricas muy empaquetadas adyacentes a la mucosa gástrica, aunque algunos están libres entre la

sangre medio digerida en el área central del lumen cecal. El kinetoplasto y el flagelo se sitúan anteriormente al núcleo. El núcleo contiene un nucleolo prominente rodeado de cromatina. Presenta numerosos ribosomas libres y ausencia de glucógeno en el citoplasma. También carece de aparato de Golgi y retículo endoplásmico liso. Poseen orgánulos semejantes a peroxisomas para su respiración extramitocondrial y pequeñas vesículas ovoides que probablemente sean vesículas pinocíticas o fagosomas.

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>T. rotatorium</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	36	4
Anchura máxima	13	5
Longitud núcleo	12	2
Anchura núcleo	3	0
Dist. Núcleo-Kinetoplasto	6	2
Dist. Kinetoplasto-Ext. Posterior	0	0
Flagelo 1	20	4

Medidos 10 ejemplares.

T. rotatorium se encuentra en casi un cuarto de las ranas examinadas de Ávila, concretamente en el 23,6% y con una intensidad media baja, ya que tan sólo alcanza el 1,4 (Tabla 25).

Tabla 25

<i>T. rot.</i>	Sexo/Edad				Estación					Localidad				Total
	HEM	MAC	RAN	REN	VER	OTO	PRI	S TO	NIH	MAR	RÍO	LAG	ALB	
Nº +	53	49	0	0	55	26	21	11	22	14	37	16	2	10,2
I. M.	1,4	1,4	0,0	0,0	1,4	1,5	1,2	1,5	1,5	1,1	1,3	1,6	1,0	1,4
P. (%)	30,5	21,4	0,0	0,0	27,5	21,8	18,6	73,3	37,3	34,1	24,3	11,3	8,7	23,6

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marlín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Como se puede apreciar en esta tabla este protozoo sólo se encuentra entre las ranas adultas en un porcentaje superior en las hembras 30,5% y 21,4% en el caso de los machos, pero con igual intensidad media, 1,4. En las ranas más jóvenes su presencia ha sido nula.

Con respecto a las estaciones del año, verano con un 27,5% es la época con mayor prevalencia y primavera la de menor, con un 18,6%, mientras que la intensidad media se mantiene más o menos constante entre el 1,2 y 1,5 a lo largo del año.

Con relación a las distintas localidades, vemos una gran diferencia entre el 73,3% de S.Tomé y el 8,7% de Albornos. La intensidad media también varía entre el 1,6 de S.Pedro (laguna) y el 1,0 de Albornos.

Este tripanosoma se encuentra distribuido de forma muy regular por todo el mundo pero no ha sido citado en la Península Ibérica y por lo tanto consideramos a *T. rotatorium* de *R. perezii* de Ávila como nueva cita de hospedador y área geográfica.

4.2.2.11.2. *Trypanosoma loricatum* Mayer, 1843

Se localiza en la sangre, entre los glóbulos rojos. Es un tripanosoma grande y elíptico con ambas terminaciones redondeadas y cuya anchura es la mitad de su longitud o incluso más grande. Presenta numerosas fibrillas longitudinales en la superficie, entre 6-12, aunque no siempre son evidentes. El núcleo es redondeado y se localiza en el punto medio del cuerpo. Tiene un minúsculo kinetoplasto ovalado en la región perinuclear en la parte posterior del cuerpo. La membrana presenta algunas ondulaciones y se extiende desde la región del kinetoplasto hacia el extremo anterior del tripanosoma. El flagelo libre, normalmente no está visible o si está presente es muy corto (Foto 28).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>T. loricatum</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	45	5
Anchura máxima	24	1
Longitud núcleo	4	1
Anchura núcleo	4	1
Dist. Núcleo-Kinetoplasto	4	1
Dist. Kinetoplasto-Ext. Posterior	18	2

Medidos 10 ejemplares.

T. loricatum es algo más frecuente en la rana común de Ávila que *T. rotatorium* (28,0%) aunque con la misma intensidad de parasitación (1,4).

Como se puede observar en la tabla 26 a diferencia de *T. rotatorium*, *T. loricatum* sí aparece entre las ranas jóvenes, aunque no en los renacuajos, con un 14,3% de parasitación y 1,0 de intensidad media. En los adultos el porcentaje es el doble que en las ranitas y con una prevalencia y una intensidad media muy semejante, alrededor del 29% y 1,5 respectivamente.

Con relación a las estaciones del año se observa que en otoño la prevalencia disminuye más de la mitad con respecto a primavera y verano, donde ya se aprecia un ligero descenso. Sin embargo, la intensidad media va aumentado ligeramente a medida que transcurre el año y se suceden las estaciones.

Teniendo en cuenta las distintas zonas, esta especie muestra una gran variabilidad entre ellas, siendo S.Tomé y Albornos, al igual que en *T. rotatorium*, las de mayor y menor prevalencia con un 73,3% y 13,0%, respectivamente y sin embargo son Albornos y Marín las zonas que presentan una mayor y menor intensidad media con 1,7 y 1,1 respectivamente.

Tabla 26

<i>T. lor.</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	MAC	HEM	RAN	REN	PRI	VER	OTO	S.TO	MAR	RÍO	NIH	LAG	ALB	
N° +	71	48	2	0	40	63	18	11	15	47	15	30	3	121
I. M.	1,4	1,5	1,0	0,0	1,3	1,4	1,6	1,6	1,1	1,6	1,3	1,3	1,7	1,4
P. (%)	31,0	27,6	14,3	0,0	35,4	31,5	15,1	73,3	36,6	30,9	25,4	21,1	13,0	28,0

N° +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

T. loricatum, al igual que *T. rotatorium*, tiene una distribución cosmopolita y no ha sido citado en la Península Ibérica, por lo que también la consideramos como una nueva cita de hospedador y área geográfica en *R. perezii* de Ávila.

4.2.2.11.3. *Trypanosoma* sp.1

Se localiza en la sangre, entre los glóbulos rojos. El tripanosoma inmaduro tiene un cuerpo delgado y con forma de "S" o "C" (Foto 29), pero en estado maduro es algo rechoncho (Foto 30). Ambas terminaciones del cuerpo son afiladas, especialmente la posterior, a veces atenuada en un hilo. El citoplasma se tiñe intensamente y en algunos tripanosomas es muy difícil de observar el kinetoplasto, núcleo y membrana ondulante. El kinetoplasto es diminuto y circular, a menudo con una pequeña vacuola por delante de él. El flagelo marginal de la membrana ondulante es muy fino y normalmente difícil de observar. La membrana ondulante (si se ve) es muy estrecha. La parte periférica del núcleo no es muy clara pero su forma es circular o elíptica. El flagelo libre está ausente o es muy corto.

Esta especie recuerda algo a *T. sulawesiense* Miyata, 1995 de *Rana celebensis* de Sulawesi (Indonesia). Sin embargo, *Trypanosoma* sp.1 es fácilmente distinguible por la pequeña longitud del cuerpo, situación bastante posterior del kinetoplasto y por la estrecha membrana ondulante.

T. undulans Franca and Athias, 1906, que describieron de una rana europea (*R. esculenta*) es en apariencia algo similar a la nueva especie, aunque *T. undulans* es bastante más pequeña (longitud del cuerpo: 30-34 µm).

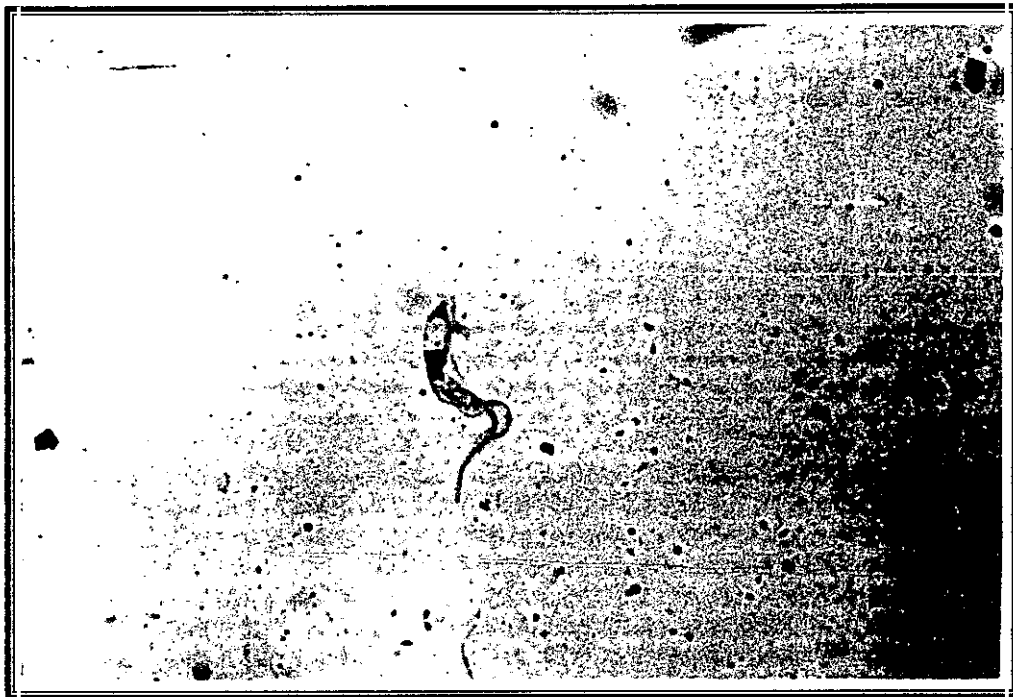


FOTO 26: *Trypanosoma* sp. (3150 x). En sanguijuela.

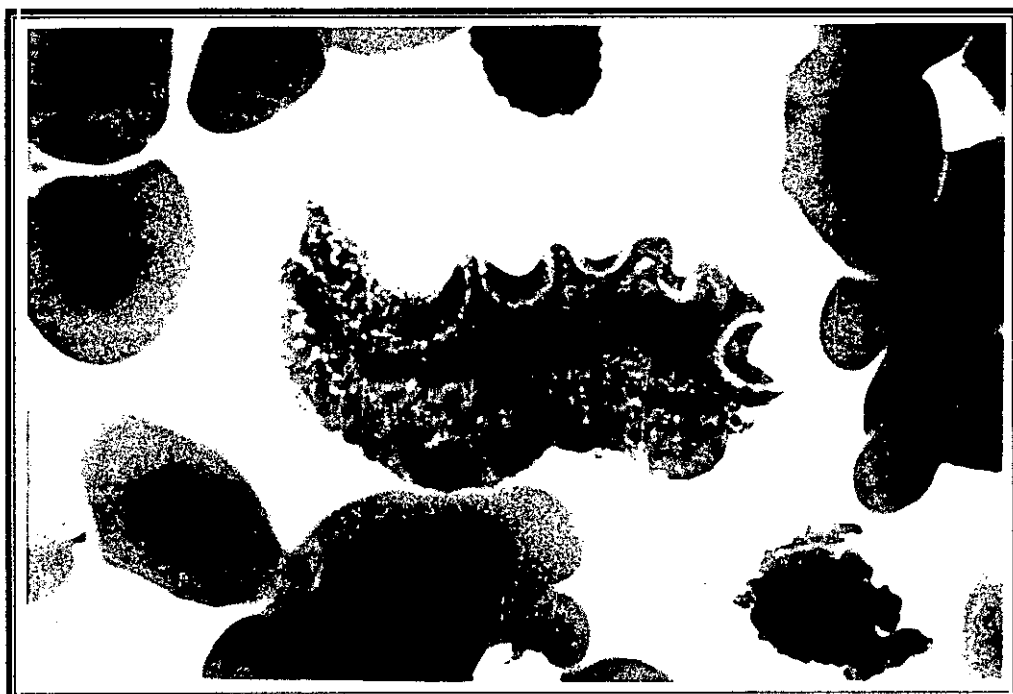


FOTO 27: *Trypanosoma rotatorium* (3150 x).



FOTO 28: *Trypanosoma loricatum* (3150 x).

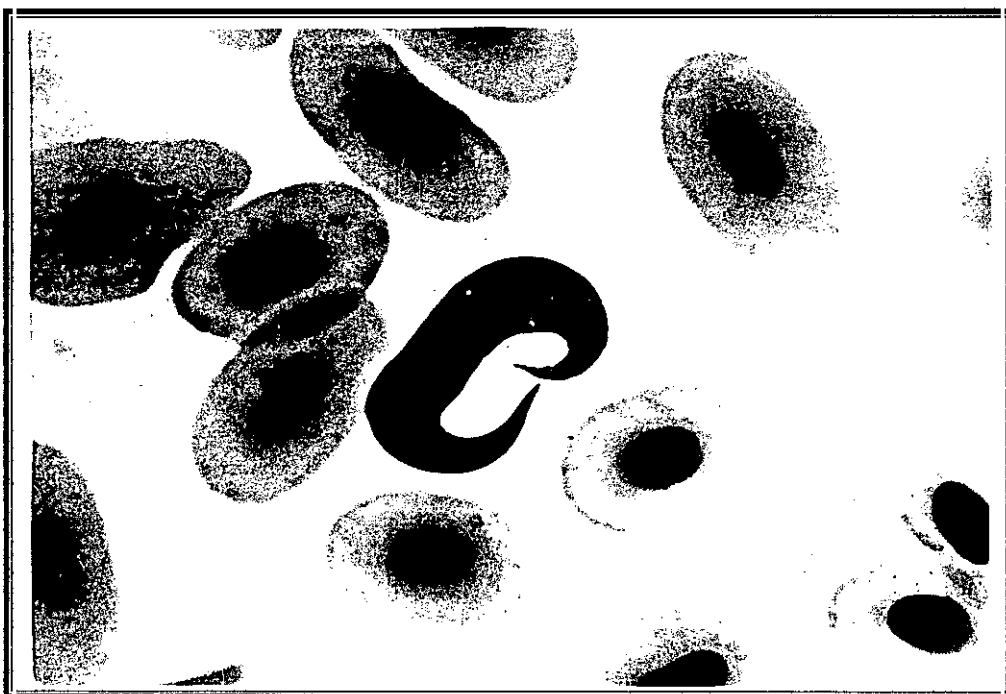


FOTO 29: *Trypanosoma* sp.1 (3150 x).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>Trypanosoma</i> sp.1	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	30	11
Anchura máxima	8	2
Longitud núcleo	5	1
Anchura núcleo	3	1
Dist. Núcleo-Kinetoplasto	7	1
Dist. Kinetoplasto-Ext. Posterior	9	5
Flagelo 1	2	0

Medidos 10 ejemplares.

Trypanosoma sp.1 es casi tan frecuente en la rana común de Ávila, como *T. rotatorium* (22,0%) y con la mayor intensidad media de todos los tripanosomas (1,9) (Tabla 27).

Tabla 27

<i>T.sp.</i>	Sexo/Edad				Estación					Localidad				Total
	MAC	HEM	RAN	REN	PRI	OTO	VER	NIH	LAG	RÍO	MAR	S.TO	ALB	
N° +	61	32	2	0	31	26	38	29	34	25	6	1	0	95
I.M.	1,9	2,0	1,5	0,0	1,7	2,1	2,0	2,0	2,1	1,7	1,5	2,0	0,0	1,9
P. (%)	26,6	18,4	14,3	0,0	27,4	21,8	19,0	49,2	23,9	16,4	14,6	6,7	0,0	22,0

N° +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Al igual que *T. loricatum* y a diferencia de *T. rotatorium*, *Trypanosoma* sp.1 aparece en las ranitas aunque con una prevalencia e intensidad media ligeramente menor que en los adultos, sólo 14,3% y 1,5 frente al 26,6% y 1,9 de los machos así como 18,4% y 2,0 en las hembras.

Sin embargo con respecto a las estaciones *Trypanosoma* sp.1 al contrario que *T. rotatorium*, tiene un porcentaje de parasitación mayor en primavera y menor en verano aunque con una intensidad media muy semejante.

Si tenemos en cuenta las zonas vemos que, al igual que los otros tripanosomas, muestra una gran variabilidad dependiendo de las distintas localidades, siendo esta vez Niharra la de mayor prevalencia y S.Tomé la de menor con un 49,2% y 6,7% respectivamente, estando ausente en Albornos. La intensidad media también varía entre el 1,5 de Marín y el 2,1 de S.Pedro (laguna).

Según Miyata, en una comunicación personal, este tripanosoma se parece a *T. undulans* França and Athias, 1906 de *R. esculenta* de Lisboa, pero éste es más corto

que nuestros ejemplares. Nosotros, al igual que Miyata, no hemos encontrado citado ningún tripanosoma igual que *Trypanosoma* sp.1 por lo que deducimos que se trata de una nueva especie en *Rana perezii* de Ávila que validaremos en el momento de su publicación.

4.2.2.11.4. *Trypanosoma* sp.2

Se localiza en la sangre, entre los glóbulos rojos y fagocitados en los macrófagos. Es un tripanosoma pequeño alargado y muy fino con ambas terminaciones muy afiladas. El citoplasma es uniforme, no granulado. Posee un núcleo ovalado, paralelo a este eje y situado en el centro. El kinetoplasto es elíptico pero perpendicular al eje longitudinal del cuerpo y localizado cerca del núcleo. Tiene una membrana ondulante moderadamente desarrollada que se continúa con un flagelo libre largo (Foto 31).

Hemos podido observar en las preparaciones sanguíneas algunos tripanosomas dividiéndose por una fisión binaria desigual, originando células hijas tripomastigotes y epimastigote, al igual que lo que sucede en *T. ogawai* Miyata, 1977. En un primer lugar se puede ver como se divide el kinetosoma, a continuación el núcleo y parte del citoplasma, permaneciendo los dos tripanosomas hijos en forma tripomastigote, unidos en su extremo anterior. Posteriormente, uno de los kinetosomas se va trasladando hacia el extremo anterior del cuerpo, por delante del núcleo, transformándose en forma epimastigote. Por último el citoplasma se divide completamente dando origen a un tripanosoma en forma tripomastigote y otro en forma epimastigote (Fotos 32 y 33).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>Trypanosoma</i> sp.2	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	14	4
Anchura máxima	2	0
Longitud núcleo	2	0
Anchura núcleo	1	0
Dist. Núcleo-Kinetoplasto	2	1
Dist. Kinetoplasto-Ext. Posterior	5	1
Flagelo 1	8	1

Medidos 10 ejemplares.

Es el tripanosoma menos frecuente de la rana común de Ávila con tan sólo el 3,7% de prevalencia pero con la misma intensidad media que *T. rotatorium* y *T. loricatum*, 1,4 (Tabla 28).



FOTO 30: *Trypanosoma* sp.1 (3150 x).



FOTO 31: *Trypanosoma* sp.2 (3150 x). Libres y en macrófagos (fagocitados).

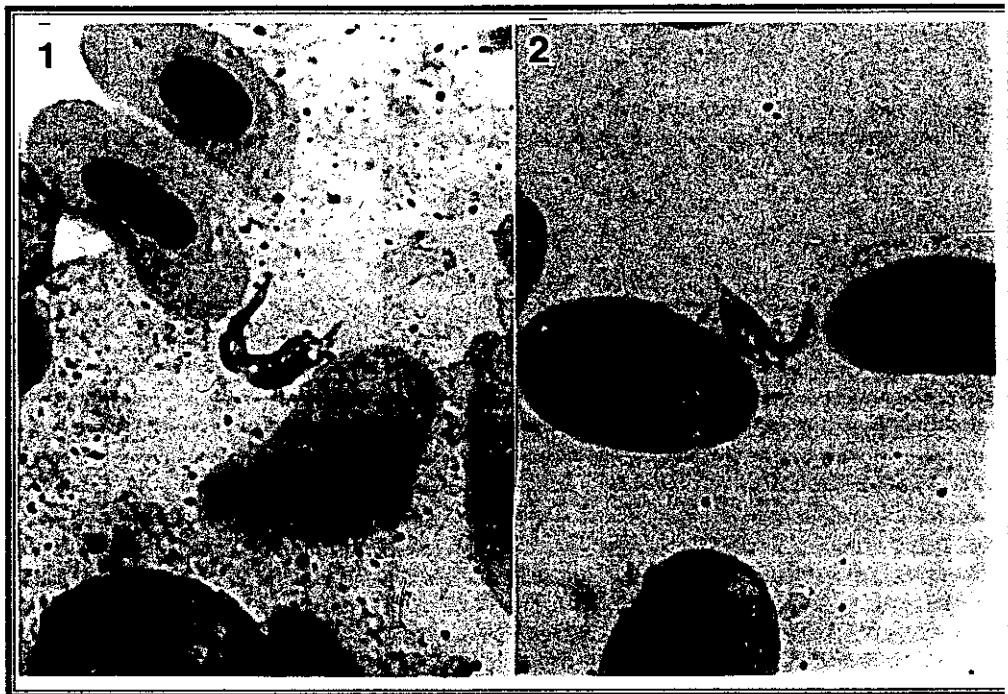


FOTO 32: *Trypanosoma* sp.2 (3150 x). Mitosis. Fase 1: división del kinetosoma. Fase 2: división del núcleo y parte del citoplasma.

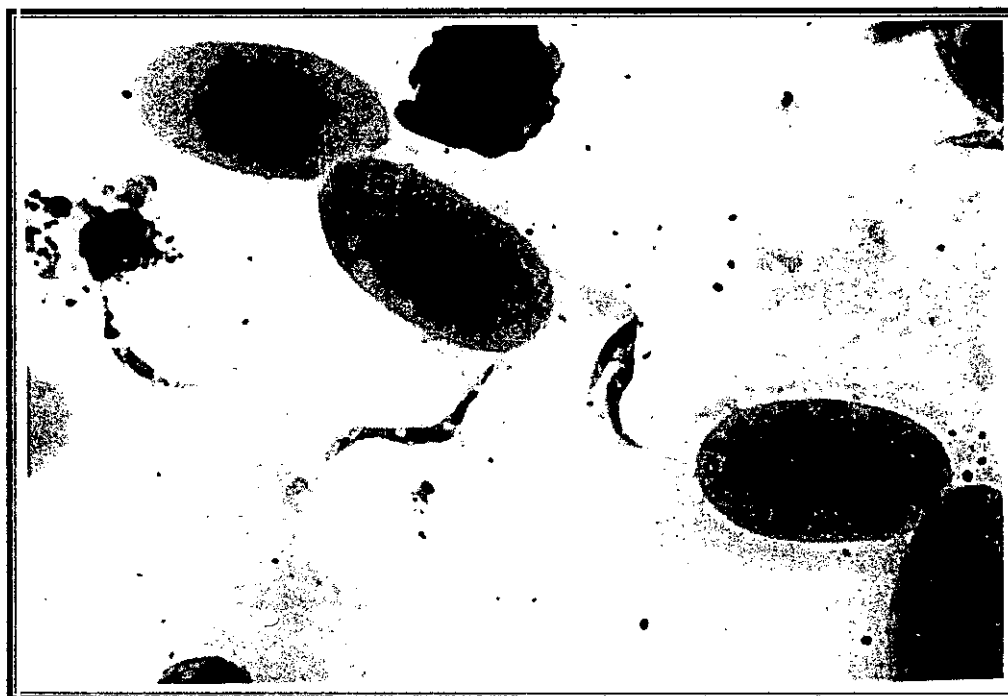


FOTO 33: *Trypanosoma* sp.2 (3150 x). Mitosis. Fase 3: traslado de uno de los kinetosoma por delante del núcleo (forma epimastigote).

Tabla 28

T.sp.2	Sexo/Edad				Estación			Localidad					Total	
	MAC	HEM	RAN	REN	VER	PRI	OTO	LAG	NIH	RÍO	ALB	MAR		S.TO
N° +	11	5	0	0	9	3	4	9	4	3	0	0	0	16
I.M.	1,5	1,0	0,0	0,0	1,7	1,0	1,0	1,7	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	1,4
P. (%)	4,8	2,9	0,0	0,0	4,5	2,7	3,4	6,3	6,8	2,0	0,0	0,0	0,0	3,7

N° +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marlín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Trypanosoma sp.2, al igual de lo que ocurría con *T. rotatorium* y a diferencia de *T. loricatum* y *Trypanosoma* sp.1, no se encuentra entre las ranas jóvenes, sólo en los adultos, siendo la prevalencia y la intensidad media mayor en los machos (4,8% y 1,5 respectivamente) que en las hembras (2,9% y 1,0).

Si tenemos en cuenta las estaciones, observamos que los valores de *Trypanosoma* sp.2 no concuerdan con ninguno de los tripanosomas anteriores, siendo su máximo porcentaje de parasitación e intensidad media en verano (4,5 y 1,7 respectivamente) y reflejando los valores mínimos en otoño (3,4 y 1,0 respectivamente).

Con respecto a las zonas, este tripanosoma es más restringido que los anteriores ya que sólo se encuentra en dos localidades Niharra y S.Pedro y está ausente en las otras tres: Albornos, Marlín y S.Tomé.

Según Miyata, en una comunicación personal, *Trypanosoma* sp.2, es muy semejante a un pequeño tripanosoma (*Trypanosoma* sp.E) detectado por él (1978) en varias localidades de Europa y Asia, pero que hasta ahora no ha sido descrito y por lo tanto se puede considerar como una nueva especie en *Rana perezii* de Ávila, en el momento de su publicación.

4.2.2.12. *Rhizomastix* sp.

La única especie citada en el género *Rhizomastix* Alexeieff, 1911 es *R. gracilis* Alexeieff, 1911 en larvas de *Tipula* sp. y de axolotes (anfibios). La mayoría de los individuos tienen un cuerpo alargado, aunque algunos son redondeados y en algunos momentos algo ameboides. Tienen un núcleo central prominente que contiene un endosoma central relativamente grande, el cual en algunos casos está conectado con una cromatina periférica ligeramente teñida. Posee un flagelo largo cuya longitud es al menos el doble de la longitud del cuerpo. El flagelo surge de la parte anterior, se continúa en el citoplasma, con un rizostilo (axonema del flagelo en forma de una larga fibra), y termina en un blefaroplasto (pequeño gránulo basal) localizado entre el núcleo y el extremo posterior. El citoplasma está finamente granulado y teñido ligeramente. Carecen de vacuola contráctil (Foto 34).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>Rhizomastix</i> sp.	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	9	3
Anchura máxima	7	2
Longitud núcleo	4	1
Anchura núcleo	3	1
Flagelo 1	13	5

Medidos 10 ejemplares.

Las medidas de *R. gracilis* según Ludwig (1946) son de 3,7-10 x 2-4 µm (media: 7,5 x 2,5 µm) y los ejemplares redondos, de 4,0 µm. Como podemos observar nuestros ejemplares son más anchos que los ejemplares alargados de Ludwig y también más grandes que los redondos citados anteriormente. El flagelo tampoco mide el doble de la longitud del cuerpo, por lo que posiblemente se deba al distinto hospedador o se trate de una especie nueva.

Este protozoo se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal) y es el segundo menos frecuente en la rana común de Ávila. Su distribución total corresponde al 0,9% de las ranas y su intensidad media de parasitación es baja, con un 1,5. Según Ludwig (1946) la prevalencia de *R. gracilis* en larvas de *Tipula* sp., con un 30% de parasitación, es mucho mayor que en *R. perezi* (Tabla 29).

Tabla 29

<i>Rhiz</i>	Sexo/Edad				Estación				Localidad					Total
	HEM	MAC	RAN	REN	OTO	PRI	VER	NIH	ALB	LAG	MAR	RÍO	S.TO	
Nº +	4	0	0	0	4	0	0	4	0	0	0	0	0	4
I. M.	1,5	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5
P. (%)	2,3	0,0	0,0	0,0	3,4	0,0	0,0	6,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marlín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Curiosamente esta especie ha aparecido en ranas (4 casos) todas ellas hembras, de la localidad de Niharra y recogidas en otoño.

Denunciamos a este flagelado como una posible nueva especie cuyo hospedador es *R. perezi* y su área geográfica, Ávila.

4.2.2.13. *Opalina ranarum* (Ehrenberg, 1832) Purkinje y Valentin, 1835

Se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal). Tiene forma foliácea, aplanada, la terminación posterior es muy redondeada y su sección transversal es más o menos elíptica, aunque el tamaño y la forma varían en relación con el estado de la fase reproductiva. Los núcleos son monomórficos relativamente pequeños, todos iguales, normalmente más de 4 pero nunca pareados, la cromatina nuclear reticulada y se dividen por mitosis. La superficie del cuerpo está densamente cubierta de órganulos locomotores semejantes a cilios o flagelos. En el borde anterior del cuerpo hay una región denominada "hoz" que es la zona donde nacen las filas de los cilios (kinetias). Esta hoz es marginal, larga, delgada y casi perpendicular al eje anteroposterior del cuerpo. Carece de citostoma y citofaringe y la ingestión se realiza a través de una pinocitosis modificada. No se aprecia ninguna traza de aparato excretor (Foto 35). Nadan normalmente sobre una cara plana, puede rotar en espiral, primero en una dirección y girar a la otra cara. Se reproducen sexualmente por singamia (meiosis prezigótica) y asexualmente por escisión más o menos longitudinal, pero también puede ser transversal. Forman quistes de reproducción o de resistencia.

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>O. ranarum</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	121	41
Anchura máxima	77	27
Longitud núcleo	5	1
Anchura núcleo	5	1
Longitud Hoz	64	18

Medidos 10 ejemplares.

O. ranarum es una especie poco frecuente en la rana común de Ávila con casi 1/3 de las ranas infectadas (30,6%) y una intensidad media de parasitación baja, ya que sólo alcanza el 1,4 de media por rana, siendo esta intensidad muy regular, con relación a las estaciones del año y variando considerablemente con respecto a la edad o localidad de la rana.

Como se puede observar en la tabla 30, con relación al sexo de la rana, los valores de prevalencia e intensidad media son prácticamente iguales, pero con relación a la edad, podemos observar que estos valores son ligeramente inferiores en las ranitas, y nulos en los renacuajos.

Sin embargo, respecto a las estaciones, el porcentaje de parasitación varían considerablemente, siendo más abundante en primavera, con 42,5%, disminuyendo en verano (32,0%) y reduciéndose a la mitad en otoño, con un 16,8%.

También varía mucho la prevalencia con relación a las localidades, cuyos valores se encuentran entre el 43,5% de Albornos y el 6,7% de S.Tomé.

Tabla 30

<i>O. ran</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	HEM	MAC	RAN	REN	PRI	VER	OTO	ALB	LAG	MAR	NIH	RÍO	S.TO	
Nº +	56	73	3	0	48	64	20	10	45	10	7	59	1	132
I. M.	1,4	1,4	1,0	0,0	1,4	1,4	1,3	1,1	1,3	1,4	1,1	1,5	2,0	1,4
P. (%)	32,2	31,9	21,4	0,0	42,5	32,0	16,8	43,5	31,7	24,4	11,9	38,8	6,7	30,6

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Ampliamente distribuido por todo el mundo, *O. ranarum* sólo ha sido citado en las Islas Canarias en *H. meridionalis* y *R. perezii*, por lo tanto nosotros la consideramos como una nueva cita de área geográfica en Ávila.

4.2.2.14. *Opalina obtrigona* Stein, 1867

Se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal). Es semejante a *O. ranarum* pero de mayor tamaño y con una cola puntiaguda o caudal. Las células hijas resultantes de la división transversal son de forma más redondeada y las formas más delgadas son probablemente producto de la fisión longitudinal. El poro excretor es un canalículo corto y una vacuola lenticular (Foto 36). Forman quistes de reproducción o de resistencia.

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>O. obtrigona</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	80	24
Anchura máxima	25	18
Longitud núcleo	5	3
Anchura núcleo	5	3
Longitud Hoz	24	15

Medidos 10 ejemplares.

O. obtrigona es ligeramente más frecuente en la rana común de Ávila que *O. ranarum* ya que se encuentra en el 38,7% de las ranas, pero su intensidad media de parasitación es muy superior que en el caso anterior, con 2,1 de media por rana, variando considerablemente con respecto a la edad, sexo, estación o localidad de la rana (Tabla 31).

Tabla 31

<i>O. obt</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	REN	HEM	MAC	RAN	VER	OTO	PRI	S.TO	NIH	MAR	RÍO	LAG	ALB	
Nº +	11	75	77	4	87	50	30	11	36	23	51	42	4	167
L.M.	1,4	2,2	2,0	2,8	2,1	2,4	1,5	2,0	2,5	1,8	1,8	2,3	1,0	2,1
P. (%)	73,3	43,1	33,6	28,6	43,5	42,0	26,5	73,3	61,0	56,1	33,6	29,6	17,4	38,7

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

L.M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Si tenemos en cuenta el sexo y la edad de la rana, observamos que los valores de prevalencia varían muchísimo con respecto a los valores de *O. ranarum*, pues en esta especie, los mayores porcentajes de parasitación se encuentran en los renacuajos con casi las tres cuartas partes de ejemplares infectados, mientras que en los adultos la parasitación es de menos de la mitad de las ranas, siendo en las hembras superior a la de los machos con un 43,1% y 33,6% respectivamente. En las ranitas, el porcentaje de infección es de alrededor de la cuarta parte de los ejemplares, con un 28,6%. Sin embargo, la intensidad media es justo al contrario, mayor en las ranitas y menor en los renacuajos (2,8 y 1,4 respectivamente).

Con respecto a las distintas épocas del año y a diferencia de *O. ranarum*, el porcentaje de parasitación es muy similar en verano y otoño (alrededor del 43%) y se reduce casi a la mitad en primavera, con 26,5%.

Pero con relación a las localidades y al igual de lo que ocurría con *O. ranarum*, la prevalencia varía considerablemente de unos sitios a otros, siendo el valor más alto 73,3% en S.Tomé y el más bajo 17,4% en Albornos, justo todo lo contrario que en *O. ranarum*.

O. obtrigona también se encuentra muy distribuido por todo el mundo y muy poco mencionado en España, con la única cita en *H. meridionalis* y *R. perezi* de las Islas Canarias. Nosotros la consideramos como una nueva cita de área geográfica en Ávila.

4.2.2.15. *Cepedea dimidiata* (Stein, 1860) Metcalf, 1923

Se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal). Es un organismo de forma cilíndrica o fusiforme con la parte anterior redondeada y la posterior terminada en una punta afilada y curva. Tiene forma espiral y se puede observar que la parte anterior está doblada hacia un lado y la posterior en sentido contrario. Los órganos locomotores se disponen en kinetias o filas de cilios que también muestran la espiralidad. Los núcleos son monomórficos, relativamente pequeños, más de 4 e impares; la cromatina nuclear es reticulada y se dividen por mitosis. No tienen citostoma ni citofaringe y la ingestión se produce por una pinocitosis modificada. Presentan gran diversidad de tamaños y proporciones del cuerpo, siendo definidas comúnmente como delgadas, muy delgadas,

espesas, muy espesas o del tipo "Zelleriella". La sección transversal es redondeada. La hoz es axial, corta, ancha y casi paralela al eje anteroposterior del cuerpo. Nadan con un movimiento de hélice retorcida (Foto 37). Se reproducen sexualmente por singamia (con meiosis prezigótica) y asexualmente por división longitudinal o transversal. Forman quistes de reproducción o de resistencia.

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>C. dimidiata</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	77	9
Anchura máxima	15	3
Longitud núcleo	5	0
Anchura núcleo	5	0
Longitud Hoz	15	2

Medidos 10 ejemplares.

C. dimidiata es casi tan frecuente como las especies de *Opalina* en la rana común de Ávila, con una prevalencia del 39,8% de las ranas y con una intensidad media de parasitación del 1,7 (Tabla 32).

Tabla 32

<i>C.dim.</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad					Tota	
	MAC	HEM	RAN	REN	PRI	VER	OTO	RÍO	LAG	MAR	NIH	ALB	S.TO	
N° +	107	63	1	1	69	68	35	76	58	14	16	5	3	172
I.M.	1,7	1,8	1,0	3,0	1,5	1,8	2,1	1,6	1,9	1,6	1,8	1,8	2,0	1,7
P. (%)	46,7	36,2	7,1	6,7	61,1	34,0	29,4	50,0	40,8	34,1	27,1	21,7	20,0	39,8

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marlín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Con relación a la edad de la rana, el porcentaje de parasitación es mucho mayor en las ranas adultas que en las jóvenes. La prevalencia es muy similar entre las ranitas y los renacuajos pero con unos valores de intensidad media completamente opuestos: muy parasitados los renacuajos (3,0) y escasamente parasitadas las ranitas (1,0). Con relación al sexo, se puede apreciar un mayor porcentaje de parasitación en los machos que en las hembras, 46,7% y 36,2% respectivamente y sin embargo su intensidad media es muy semejante.

Según las distintas épocas del año, la prevalencia varía considerablemente, alcanzándose el mayor índice en primavera con 61,1% y disminuyendo casi a la mitad en verano y otoño, aunque su intensidad media, varía en sentido contrario: mayor en otoño y menor en primavera.

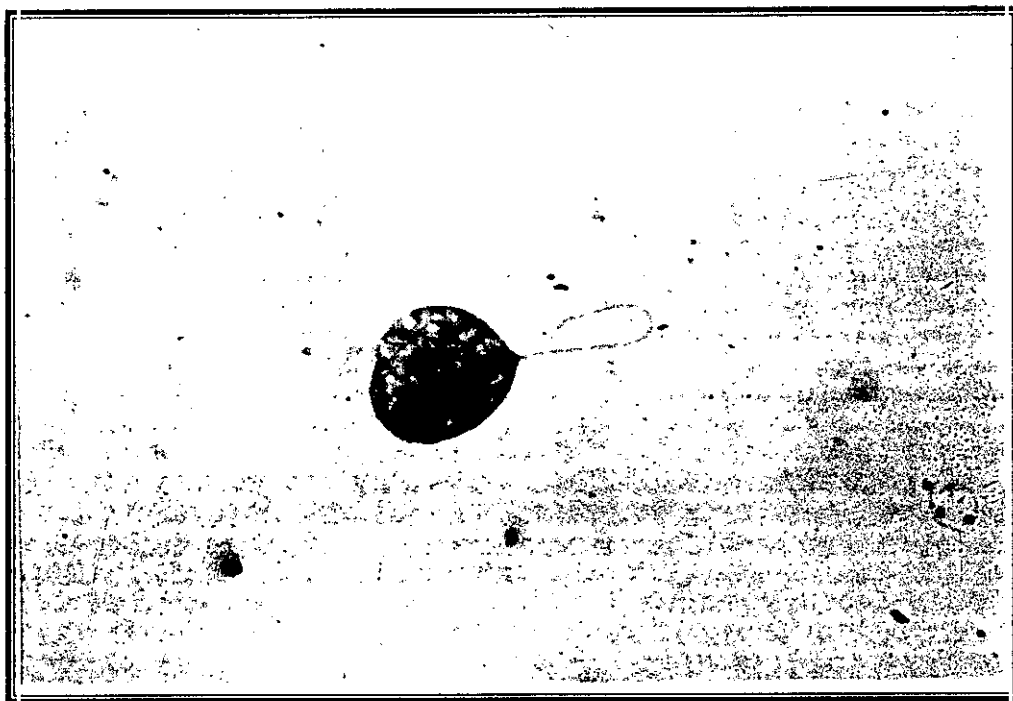


FOTO 34: *Rhizomastix* sp. (3150 x).

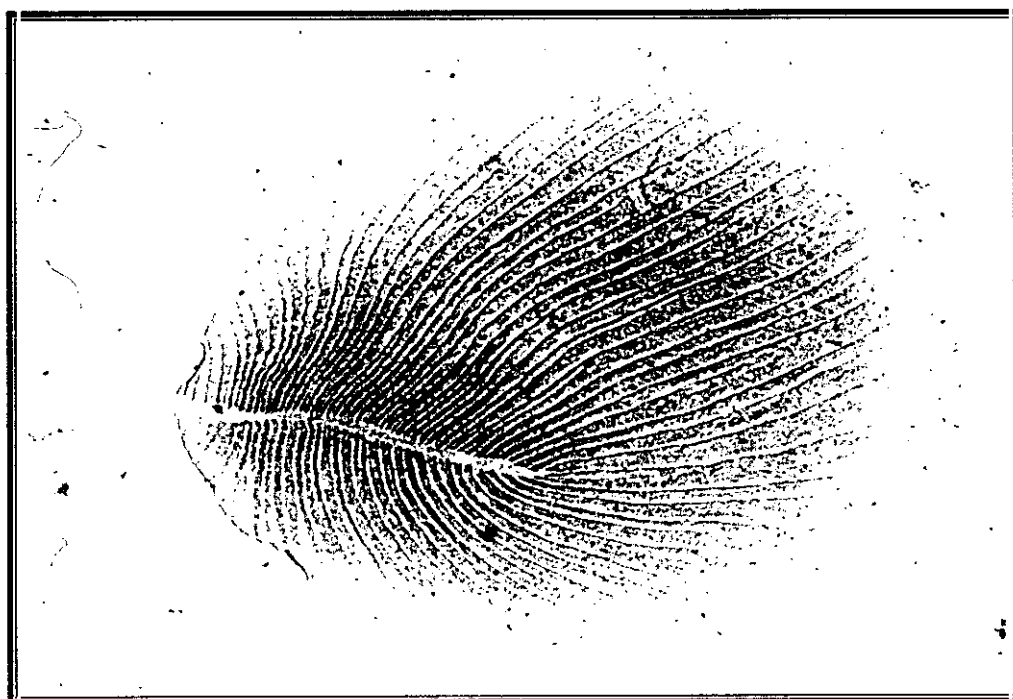


FOTO 35: *Opalina ranarum* (900 x).



FOTO 36: *Opalina obtrigona* (900 x).



FOTO 37: *Cepedea dimidiata* (900 x).

Si nos fijamos en las localidades, podemos observar que los porcentajes de infección oscilan entre el 50,0% de S. Pedro (río) y el 20, 0% de S. Tomé, pero su intensidad media no varía mucho, encontrándose cerca del 1,8.

Al igual que en las especies de *Opalina*, *C. dimidiata* está muy distribuido por todo el mundo y sólo ha sido citada en España en *H. meridionalis* y *R. perezii* de las Islas Canarias, por lo que su aparición en la *R. perezii* de Ávila, supone una nueva cita de área geográfica.

4.2.2.16. *Entamoeba ranarum* Grassi, 1879

Se localizan en el intestino grueso (ampolla rectal). Son uninucleados, poseen una membrana exterior delgada y, por tanto, son capaces de formar pseudópodos. El citoplasma está diferenciado en ectoplasma o hialoplasma y endoplasma. El ectoplasma es claro y sin orgánulos celulares, mientras que el endoplasma es granular y contiene los orgánulos típicos de otros protistas, aunque en un estado menos organizado. Carece de mitocondrias y tiene vacuolas digestivas con bacterias (Foto 38). La reproducción asexual se verifica generalmente por fisión binaria. Forman quistes de 4 ó 16 núcleos.

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>E. ranarum</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	20	9
Anchura máxima	16	9
Longitud núcleo	5	2
Anchura núcleo	3	1

Medidos 10 ejemplares.

E. ranarum, es un parásito poco común en las ranas de Ávila ya que sólo se encuentra en 1/5 de ellas con un 20,4% de prevalencia y una intensidad media de parasitación también muy pequeña, el 1,2.

Como se puede apreciar en la tabla 33, *E. ranarum* aparece en los renacuajos en un 6,7% y con un 1,0 de intensidad media, desaparece en las ranitas y luego, vuelve a aparecer en los adultos, siendo las ranas hembras las de mayor prevalencia e intensidad media ya que se alcanzan valores del 24,1% y 1,3 respectivamente frente al 19,7% y 1,1 de los machos.

Según las estaciones, el porcentaje de parasitación se incrementa a medida que transcurre el año, siendo más bajo en primavera, el doble en verano y sigue aumentando en otoño.

Teniendo en cuenta las distintas localidades, se puede observar que Niharra es la zona de mayor prevalencia e intensidad media, con un 37,3% y 1,5 respectivamente y Albornos la de menores valores con un 4,3% y 1,0 respectivamente. El resto de las zonas se encuentran comprendidas entre estos parámetros.

Tabla 33

<i>E. ran</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	HEM	MAC	REN	RAN	OTO	VER	PRI	NIH	LAG	MAR	RÍO	S.TO	ALB	
Nº +	42	45	1	0	33	43	12	22	35	7	22	1	1	88
I. M.	1,3	1,1	1,0	0,0	1,3	1,2	1,1	1,5	1,2	1,0	1,0	1,0	1,0	1,2
P. (%)	24,1	19,7	6,7	0,0	27,7	21,5	10,6	37,3	24,6	17,1	14,5	6,7	4,3	20,4

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

E. ranarum es un parásito cosmopolita y sin embargo hasta ahora no había sido citado en la Península Ibérica, por lo que lo consideramos como una nueva cita de hospedador y área geográfica en *R. perezii* de Ávila.

4.2.2.17. Amebas tipo "limax"

Se localizan en el intestino grueso (ampolla rectal). Son uninucleadas, monopodiales, heterotróficas y promitóticas durante su ciclo de vida. Se mueven por protuberancias eruptivas, hialinas y hemisféricas. Algunas amebas tipo "limax" se caracterizan por su transformación reversible de forma ameboide a formas con flagelos y kinetos asociados a microtúbulos (ameboflagelados) (Foto 39). El ciclo sexual está ausente. Forman quistes.

En ocasiones el uso de las características morfológicas ha sido criticado, por ejemplo por Pussard (1966) y Stratford y Griffiths (1978) porque las descripciones de los pseudópodos son a veces imprecisas y la morfología de los quistes puede ser extremadamente variable o modificada significativamente por las condiciones del medio ambiente. Culbertson y Harper proponen un nuevo método inmunológico para la identificación de las amebas, que es una modificación de la reacción indirecta de coagulación de la proteína A de *Staphylococcus* (ISPAC). Frank realizó un estudio, el SLCA, basándose en los caracteres morfológicos y conducta de las amebas y reveló la estrecha relación entre todas las cepas de amebas de vida libre aisladas de reptiles y anfibios y la gran distancia con *Entamoeba invadens*.

Debido a que nosotros no hemos podido realizar un ISPAC y ni siquiera las hemos podido cultivar, no sabemos a que especie pertenecen nuestras amebas y las consideramos de forma general como amebas tipo "limax", por las características generales anteriormente citadas.



FOTO 38: *Entamoeba ranarum* (3150 x).

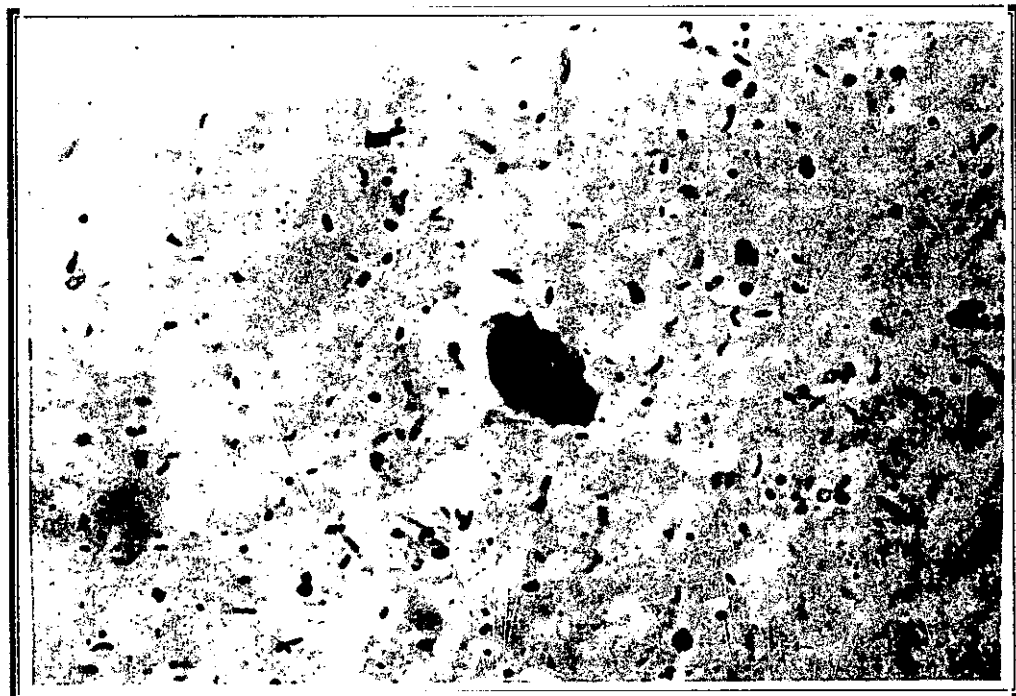


FOTO 39: Amebas tipo "limax" (3150 x).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>A. limax</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	7	1
Anchura máxima	6	2
Longitud núcleo	3	1
Anchura núcleo	2	0

Medidos 10 ejemplares.

Las amebas tipo "limax" son protozoos muy poco frecuentes en la rana común de Ávila ya que sólo se encuentran en el 5,3% de las ranas y con una intensidad media baja (1,5), pero muy variable con valores que van oscilan entre el 1,0 y el 3,0 (Tabla 34).

Tabla 34

<i>A. lim</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	MAC	RAN	REN	HEM	VER	PRI	OTO	MAR	LAG	RÍO	NIH	ALB	S.TO	
Nº +	17	1	1	4	18	3	2	7	8	7	1	0	0	23
I.M.	1,4	3,0	1,0	1,5	1,6	1,0	1,5	1,6	1,1	1,7	2,0	0,0	0,0	1,5
P. (%)	7,4	7,1	6,7	2,3	9,0	2,7	1,7	17,1	5,6	4,6	1,7	0,0	0,0	5,3

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Según muestra la tabla, la prevalencia de estas amebas en las ranas machos, en ranitas y renacuajos es muy semejante (alrededor del 7%), mientras que disminuye considerablemente en las ranas hembras, con tan sólo un 2,3% de parasitación. Sin embargo, la intensidad media varía mucho, desde un 1,0 en renacuajos hasta el 3,0 en ranitas y alrededor del 1,5 en adultos.

También se puede observar que el verano es la estación con mayor porcentaje de infección, e intensidad media, llegando a alcanzar el 9,0 % y el 1,6 respectivamente, mientras que primavera y otoño son las de menor porcentaje con alrededor del 2% de parasitación, pero con una intensidad variable, 1,0 y 1,5 respectivamente.

La prevalencia también varía mucho según la zona, siendo Marín con un 17,1% la de mayor porcentaje de parasitación, a más distancia le sigue S.Pedro con alrededor del 5%, luego Niharra con sólo el 1,7% y se encuentra ausente en Albornos y S.Tomé. Su intensidad media también varía mucho, siendo esta vez Niharra, la de mayor intensidad (2,0) y S.Pedro (laguna) la de menor (1,1).

Las amebas tipo "limax" están muy distribuidas por todo el mundo y en un rango amplio de hospedadores. En España han sido citadas por Madrigal y col. (1987-1988) en *R. perezii* de las Islas Canarias, las siguientes especies: *Hartmannella vermiformis* Page, 1967, *Acanthamoeba* sp. (*polyphaga-quina-lugdunensis* complex), *Vahlkampfia avara* Page, 1967, *V. enterica* Page, 1974 y *Naegleria* sp. También se ha visto que las especies, *Vahlkampfia ranarum* y *V. salamandrae*, son exclusivas de anfibios

4.2.2.18. *Eimeria prevoti* (Laveran and Mesnil, 1902) Doflein, 1909

Los ooquistes que salen por las heces de las ranas son de diversas formas, la mayoría redondos u ovalados. Tienen cuatro esporoquistes con dos esporozoítos cada uno y un residuo ooquistico granular, dentro del cual se encuentra una vacuola. Los esporozoítos se desarrollan en una posición cabeza-cola en cada esporoquiste, donde también se forma un residuo esporoquistico. Las esquizogonias y gametogonias se realizan sobre el núcleo de las células epiteliales intestinales. Durante la esquizogonia se forman de 20 a 30 merozoítos en el esquizonte. El microgamonte origina microgametos con forma de coma que se localizan periféricamente alrededor de un residuo central. Los macrogametos tienen un citoplasma granular fino con una vacuola y un núcleo que contiene un notable cariosoma. En la maduración, los núcleos se mueven progresivamente hacia la periferia; después de la fertilización se alargan, se forma un eje nuclear y comienza la división (Fotos 40 y 41).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>E. prevoti</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud ooquiste	20	2
Anchura ooquiste	17	4
Longitud esporas	8	2
Anchura esporas	7	2

Medidos 10 ejemplares.

E. prevoti es un coccidio muy poco frecuente en la rana común de Ávila ya que sólo aparece en el 5,6% de las ranas, aunque con una mediana intensidad, el 2,0.

Como se muestra en la tabla 35, este parásito sólo ha aparecido entre las ranas adultas, con una prevalencia e intensidad media muy semejante, aunque con un porcentaje de parasitación ligeramente mayor en las hembras que en los machos, 6,9% y 5,2% respectivamente.

Las estaciones con menor prevalencia son otoño y verano, con alrededor del 4% de parasitación y en primavera aumenta a más del doble, llegando a alcanzar el 9,7%. Su intensidad varía desde el 2,3 en primavera hasta el 1,6 en verano.

Con relación a las localidades, la prevalencia oscila entre el 11,9% de Niharra y el 2,4% de Marlín, estando ausente en de Albornos y la intensidad media, entre el 3,0 de S.Tomé y el 1,0 de Marlín.

Tabla 35

<i>E. pre</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	HEM	MAG	RAN	REN	PRI	VER	OTO	NIH	S.TO	RÍO	LAG	MAR	ALB	
Nº +	12	12	0	0	11	9	4	7	1	10	5	1	0	24
I. M.	1,9	2,0	0,0	0,0	2,3	1,6	2,0	1,6	3,0	2,4	1,6	1,0	0,0	2,0
P. (%)	6,9	5,2	0,0	0,0	9,7	4,5	3,4	11,9	6,7	6,6	3,5	2,4	0,0	5,6

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Hasta ahora, *E. prevoti* sólo había sido encontrada en *Rana esculenta* de Francia, y por lo tanto, nosotros denunciarnos a *R. perezi* y a Ávila como una nueva cita de hospedador y de área geográfica.

4.2.2.19. *Lankesterella minima* (Chaussat, 1850) Nöller, 1912

La esquizogonia, gamogonia y esporogonia se produce dentro de la rana. La merogonia se origina en las células endoteliales de los vasos sanguíneos de varios órganos. Los merozoítos son parásitos ovoides cuya característica principal más destacada es que poseen un núcleo central flanqueado a los lados por un par de cuerpos paranucleares densos, elípticos y refringentes de función desconocida. Estos merozoítos se liberan de las células y entran en la sangre periférica para infectar a otras células endoteliales y repetir el ciclo (Foto 42). Después de tres o cuatro ciclos de esquizogonias, los merozoítos se transforman en gamontes. Estos gamontes son intracelulares y se encuentran dentro de una vacuola parasitófora. En extensiones teñidas con Giemsa, el citoplasma periférico se tiñe de azul oscuro, la región central es pálida y floculada y el núcleo se tiñe irregularmente de rojo. El microgamonte produce un gran número de microgametos biflagelados.

Le sigue la fertilización con la formación del cigoto que se rodean de una cubierta y da lugar a ooquistes esporoblásticos:

- Los ooquistes inmaduros son circulares y se encuentran dentro de vacuolas con material granular electrodensos (lisosomas y materia amorfa degenerativa), agrupado bajo la membrana de la vacuola parasitófora. Están rodeados de citoplasma que contiene el retículo endoplásmico, mitocondrias y otros orgánulos. Se ven de 3 a 4 núcleos ordenados periféricamente en la región central y de 3 a 4 inclusiones grandes situadas entre ellos.
- Los ooquistes maduros tienen una pared densa, delgada y no contienen material granular. Se han llegado a contar desde 8 hasta 70 esporozoítos alrededor de un cuerpo residual excéntrico encerrado en una membrana, con gotitas de lípidos y amilopectinas. Se han visto en el hígado y desplazan al núcleo de la célula

hospedadora cuyo citoplasma forma un estrecho anillo alrededor del ooquiste (Foto 43).

Los esporozoítos son liberados a la sangre e invaden los glóbulos rojos o blancos aunque también se encuentran en el plasma (Foto 44). Tienen una forma regular, levemente curvado dentro de una vacuola parasitófora, con una vacuola en la parte cóncava formada por la membrana, pero, ocasionalmente, también se encuentran completamente extendidos o plegados. La membrana es doble y más electrón-densa y gruesa en la parte posterior. Posee un núcleo prominente, un par de cuerpos paranucleares, varias mitocondrias pequeñas, retículo endoplasmático rugoso y aparato de Golgi en la parte anterior al núcleo. Su terminación anterior se caracteriza por un complejo apical típico.

Los esporozoítos pueden ser absorbidos por la sanguijuela durante la alimentación. En ella el parásito no se multiplica, sólo madura (se hace infectante) (Foto 45). Existen diferencias morfológicas entre los esporozoítos intraeritrocitarios de las ranas y los de las células de los conductos salivares de la sanguijuela. Estos esporozoítos se encuentran encerrados en vacuolas parasitóforas y a menudo intensamente flexionados en su región media o posterior. Tienen forma más irregular y contienen más cuerpos electrodensos y micronemas que en las formas intraeritrocitarias así como un mayor incremento en los cuerpos paranucleares.

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en las siguientes tablas:

<i>L. minima</i> (Merozoítos)	Media (μm)	Desvia- ción \pm
Longitud total	14	1
Anchura máxima	3	1
Longitud núcleo	3	1
Anchura núcleo	3	1

<i>L. minima</i> (Esporozoítos)	Media (μm)	Desvia- ción \pm
Longitud total	10	1
Anchura máxima	2	1
Longitud núcleo	2	0
Anchura núcleo	2	0

<i>L. minima</i> (en sanguijuela)	Media (μm)	Desvia- ción \pm
Longitud total	13	1
Anchura máxima	2	0
Longitud núcleo	3	1
Anchura núcleo	2	0

<i>L. minima</i> (en cultivo)	Media (μm)	Desvia- ción \pm
Longitud total	13	2
Anchura máxima	2	0
Longitud núcleo	2	0
Anchura núcleo	2	0

<i>L. minima</i> (Ooquistes)	Media (μm)	Desviación \pm
Longitud total	30	5
Anchura máxima	18	2

Medidos 10 ejemplares.

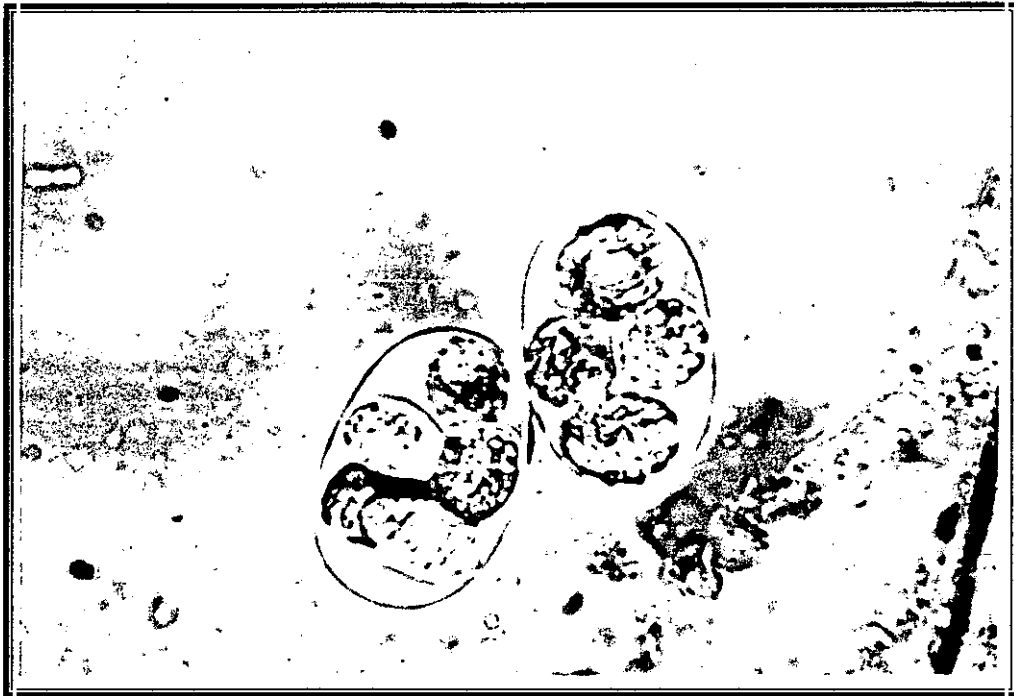


FOTO 40: *Eimeria prevoti* (3150 x). En fresco.



FOTO 41: *Eimeria prevoti* (3150 x). Teñida con Giemsa.

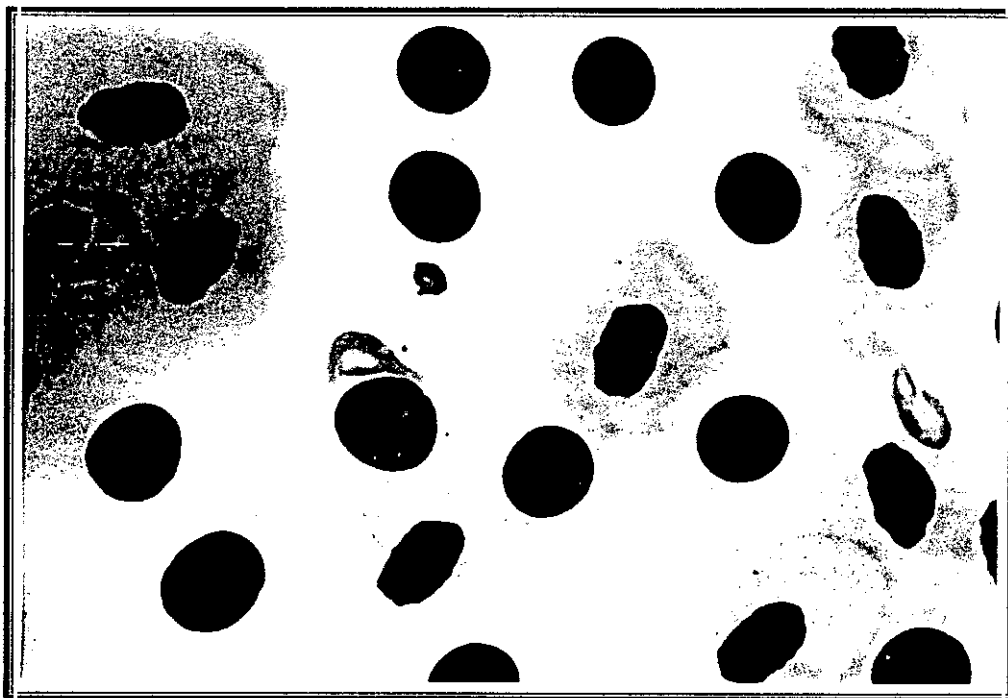


FOTO 42: *Lankesterella minima* (3150 x). Merozoítos.



FOTO 43: *Lankesterella minima* (3150 x). Ooquistes en hígado.

Hemos encontrado a este esporozoo en forma de merozoíto en los macrófagos y monocitos de la sangre con un tamaño mayor que los esporozoitos de los eritrocitos o del plasma sanguíneo. En las muestras de sanguijuelas también hemos podido observar su aumento de tamaño, que posiblemente sea la forma infectante por lo que consideramos a *Batrachobdella algira* como el vector de *L. minima* en *R. perezi* de Ávila. Además, hemos podido observarlos en cultivos de medio sanguíneo con unas medidas muy similares que a las vistas en la sanguijuela.

En general, *L. minima*, en cualquiera de sus formas, es un parásito común de las ranas de Ávila, encontrándose en el 41,4% de ellas y presentando una intensidad media del 1,6% (Tabla 36).

Tabla 36

<i>L. min.</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	HEM	MAC	RAN	REN	VER	PRI	OTO	MAR	NIH	S.TO	RÍO	LAG	ALB	
Nº +	79	98	1	1	88	47	44	31	43	8	61	35	1	179
I.M.	1,7	1,5	1,0	1,0	1,7	1,4	1,8	1,9	1,8	1,4	1,4	1,7	1,0	1,6
P. (%)	45,4	42,8	7,1	6,7	44,0	41,6	37,0	75,6	72,9	53,3	40,1	24,6	4,3	41,4

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Como se puede ver en esta tabla el porcentaje de infección y la intensidad media varía según la edad, siendo muy alta en adultos, sin apenas distinción entre hembras y machos, con algo más de un 40% y 1,5 respectivamente y muy baja en jóvenes, tanto ranitas como renacuajos, con alrededor del 7% y 1,0 respectivamente. Esto contrasta notablemente con los datos de Desser (1990) el cual comprobó que la prevalencia en ranas adultas de *R. catesbeiana* de Canadá era del 29,4%, mientras que en renacuajos era casi el doble, 54,8% y esto pensó que podía deberse a un nivel de inmunidad alto en los adultos ya que la rana está continuamente expuesta a su vector. Nosotros no podemos corroborar este dato ya que en nuestro caso la prevalencia de los adultos fue mucho mayor que la de los renacuajos.

Con respecto a los distintos periodos del año no hay mucha diferencia en cuanto a la prevalencia, siendo algo mayor en verano (44,0%) y algo menor en otoño (37,0%). Su intensidad media también es muy semejante, siendo, esta vez, superior en otoño (1,8) y algo inferior en primavera (1,4).

Según las distintas zonas, el porcentaje de parasitación y la intensidad media varían considerablemente entre el 75,6% y 1,9 de Marín y el 4,3% y 1,0 de Albornos.

L. minima es un coccidio cosmopolita pero no ha sido citado anteriormente en la Península Ibérica, por lo que consideramos Ávila como nueva cita de área geográfica e igualmente a *R. perezi* como nueva cita de hospedador.

4.2.2.20. *Dactylosoma ranarum* (Lankester, 1882) Wenyon, 1926

Sufre dos esquizogonias morfológicamente distintas dentro de una vacuola parasitófora de los eritrocitos de la rana que da lugar a dos tipos de merontes:

- Esquizogonia primaria: produce merontes grandes que originan de 4 a 16 merozoítos largos y grandes, que se tiñen ligeramente con Giemsa y están teñidos débilmente alrededor del núcleo. Este meronte no tiene cuerpo residual, debido a una gemación periférica que frecuentemente ocurre a un lado dando la apariencia de mano o abanico.
- Esquizogonia secundaria: produce merontes más pequeño y teñidos más densamente debido a sus ribosomas empaquetados y a su nucleoplasma denso. Por gemación periférica se desarrollan sólo 6 merozoítos más pequeños, de forma irregular y más densamente teñidos por sus inclusiones de amilopectina en el citoplasma. También presentan un núcleo más oscuro. Estos merozoítos están destinados a producir gamontes (Foto 46).

Los gamontes son basófilos, electrodensos (debido a la presencia de paquetes de ribosomas) y recurvados dentro del citoplasma del eritrocito. Se encuentran doblados por la parte posterior al núcleo para producir una "cola" que se extiende por detrás (alrededor del 80% de la longitud). En microscopía electrónica se ve un microporo prominente. Tiene escasas inclusiones de amilopectina. En la parte anterior al núcleo el citoplasma contiene los componentes del complejo apical y microtúbulos subpelicales y en la posterior, cuerpos densos y mitocondrias. El diámetro de la región anterior es el doble que el de la posterior y un pequeño puente citoplásmico conecta estas dos partes (Foto 47).

No se puede distinguir por microscopía óptica ni electrónica si el gamonte es isogámico o anisogámico porque no se ha podido observar ni sicigia, ni singamia en el hospedador anélido. Los ooquistes se encuentran en el intestino de la sanguijuela, son polisporoblastos y producen 30 o más esporozoítos por un proceso de gemación exógena, dentro del citoplasma de las células epiteliales.

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>D. ranarum</i> (Merozoítos)	Media (μm)	Desvia- ción \pm
Longitud total	5	0
Anchura máxima	2	0
Longitud núcleo	1	0
Anchura núcleo	1	0

<i>D. ranarum</i> (Gametocitos)	Media (μm)	Desvia- ción \pm
Longitud total	14	1
Anchura máxima	2	0
Longitud núcleo	1	0
Anchura núcleo	1	0

Medidos 10 ejemplares.

Según las medidas dadas por Barta (1991) de ejemplares de Canadá :

- Merozoíto primario: $4,3 \pm 0,4 \times 1,3 \pm 0,3 \mu\text{m}$.
- Merozoíto secundario: $3,4 \pm 0,3 \times 0,9 \pm 0,2 \mu\text{m}$.
- Gamonte: $7,0 \pm 0,7 \times 3,4 \pm 0,4 \mu\text{m}$.

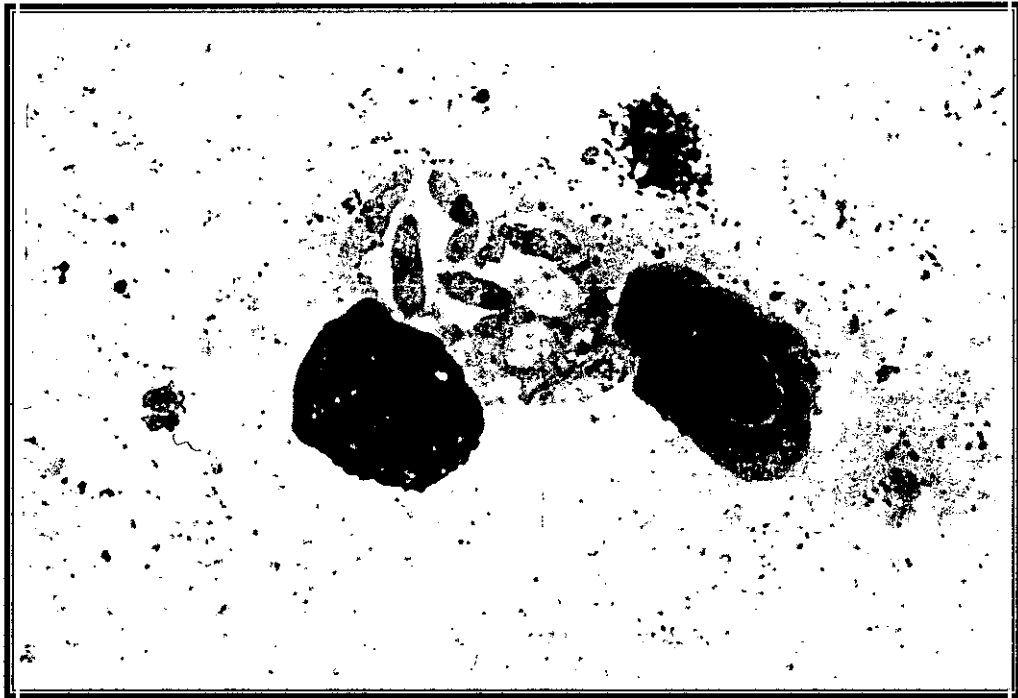


FOTO 44: *Lankesterella minima* (3150 x). Esporozoítos en macrófagos.



FOTO 45: *Lankesterella minima* (3150 x). Esporozoítos en sanguijuela.



FOTO 46: *Dactylosoma ranarum* (3150 x). Esquizonte.

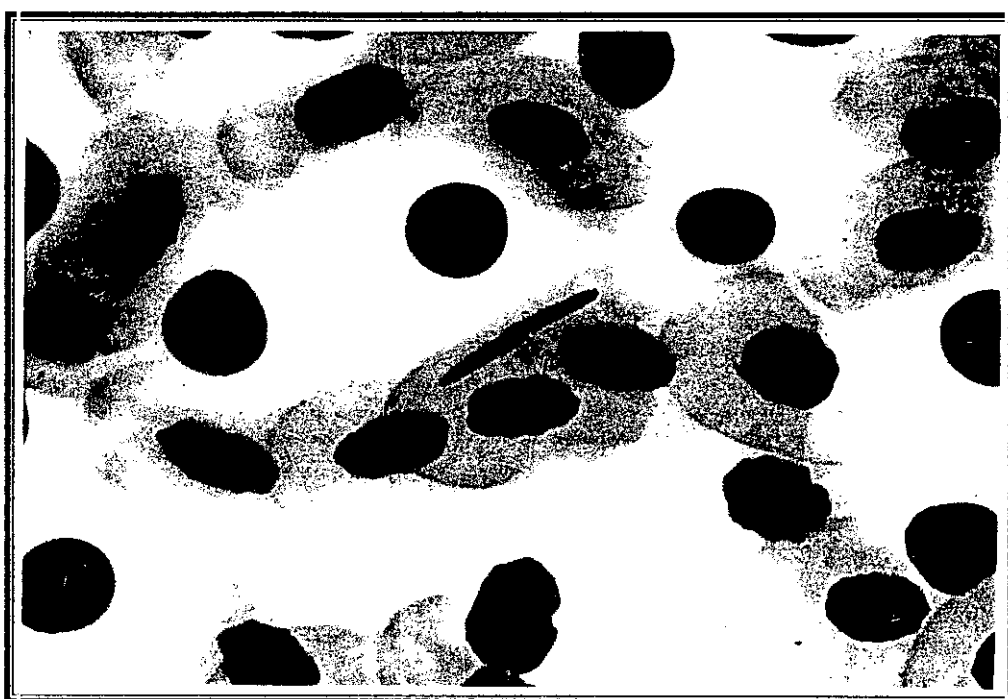


FOTO 47: *Dactylosoma ranarum* (3150 x). Gametocito.

Podemos observar que los merozoítos de nuestros ejemplares son más grandes y los gametocitos son el doble que los citados anteriormente, pero para poder discernir si se trata de una nueva especie habría que comprobarlo mediante microscopía electrónica.

Según Barta (1991) la especie *D. ranarum* se ha encontrado generalmente en una baja prevalencia dentro del hospedador vertebrado. Nosotros hemos podido observar que en la rana común de Ávila, también se encuentra en muy bajo porcentaje ya que sólo aparece en el 5,6% de las ranas y con una intensidad media de parasitación muy baja, el 1,3 (a diferencia de *L. minima*) (Tabla 37).

Tabla 37

<i>D. ran</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	MAC	HEM	RAN	REN	VER	PRI	OTO	NIH	S.TO	MAR	RÍO	LAG	ALB	
Nº +	19	11	0	0	23	6	1	6	4	5	9	6	0	23
I. M.	1,3	1,3	0,0	0,0	1,2	1,5	2,0	1,5	1,0	1,2	1,3	1,3	0,0	1,3
P. (%)	8,3	6,3	0,0	0,0	11,5	5,3	0,8	10,2	26,7	12,2	5,9	4,2	0,0	5,3

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

A diferencia de *L. minima* que podía aparecer tanto en adultos como en juveniles, *D. ranarum* sólo ha aparecido entre los adultos, con una prevalencia ligeramente superior en los machos que en las hembras (8,3% y 6,3% respectivamente), pero con igual intensidad media (1,3). No se ha encontrado entre las ranas más jóvenes.

A semejanza de *L. minima* el porcentaje de parasitación es mayor en verano (11,5%) y menor en otoño (0,8) siendo su intensidad media justo al contrario, mayor en otoño y menor en verano (2,0 y 1,2 respectivamente).

También con respecto a las distintas zonas, el porcentaje de infección oscila entre el 10,2% de Niharra y el 4,2% de S. Pedro (laguna), estando ausente en Albornos, aunque su intensidad media es muy semejante en todas las localidades.

D. ranarum es, como *L. minima*, un esporozoo cosmopolita que no ha sido citado anteriormente en la Península Ibérica, por lo que consideramos a *R. perezii* y a Ávila como una nueva cita de hospedador y de área geográfica.

4.2.2.21. *Nyctotheroides cordiformis* (Ehrenberg, 1838) Grassé, 1928

Se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal). Es muy característico por su zona adoral prominente en forma de "S" de la membranela del peristoma. Es un ciliado ovoide, con el polo apical redondeado, la cara izquierda convexa y la derecha plana para poder adherirse al sustrato. Posee un carióforo reducido que está constituido por numerosos tractos filamentosos: unos anteriores que unen el macronúcleo a la base del canal peristómico, otros inferiores que lo unen al infundíbulo y otros posteriores que lo unen a la cara dorsal del cuerpo. El canal peristómico, comienza en la proximidad del ápice, precede al infundíbulo, donde la curvatura está bien marcada y da acceso a la citofaringe. El número de kinetias somáticas es de 95 (46 sobre la cara derecha y 49 sobre la izquierda). Nadan lentamente (Foto 48).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>N. cordiformis</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	103	10
Anchura máxima	69	8
Longitud citostoma	103	4
Longitud núcleo	51	8
Anchura núcleo	19	3

Medidos 10 ejemplares.

N. cordiformis ha aparecido en el 60,0% de las ranas, por lo que se puede afirmar que este parásito es frecuente en la rana común de Ávila aunque con una intensidad media de parasitación muy baja (el 1,2), siendo muy regular, tanto con relación a la edad y sexo, como en las estaciones o localidades (Tabla 38).

Tabla 38

<i>N. cor</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	MAC	HEM	RAN	REN	PRI	VER	OTO	RÍO	S.TO	LAG	MAR	NIH	ALB	
N° +	148	101	5	5	82	112	65	107	9	86	24	24	9	259
I. M.	1,1	1,2	1,2	1,0	1,2	1,1	1,2	1,2	1,1	1,2	1,1	1,0	1,2	1,2
P. (%)	64,6	58,0	35,7	33,3	72,6	56,0	54,6	70,4	60,0	60,6	58,5	40,7	39,1	60,0

N° +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo. I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3). P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Lo primero que se puede observar es que este ciliado se encuentra tanto en las formas jóvenes (con similar porcentajes de parasitación entre las ranitas y los renacuajos), como en las ranas adultas, cuya prevalencia es ligeramente superior en los

machos, que en las hembras. A diferencia de Higgins (1929), que observó una gran variedad de formas y tamaños en los renacuajos de varias ranas, siendo en los adultos relativamente constantes en su forma, nosotros no hemos encontrado ninguna diferencia ni en la forma ni en el tamaño de esta especie en ninguna de las distintas etapas de la rana.

Dentro de los distintos periodos del año analizados, nos encontramos que el de mayor prevalencia es la primavera, con 72,6% de infección, mientras que en verano y otoño sus índices son muy semejantes e inferiores al anterior, alcanzando aproximadamente el 55% de parasitación.

En cuanto a las localidades, el porcentaje de parasitación varía notablemente según las zonas, siendo la más parasitada S. Pedro (río) y la menos parasitada Albornos (70,4% y 39,1% respectivamente).

Según diversos autores, *N. cordiformis* se encuentra por todo el mundo, aunque Delvinquier (1988) opina que su distribución quizás no sea tan grande y que los autores han utilizado este nombre para designar cualquier *Nyctotheroides* de las ranas, por lo tanto éste protozoo debe ser mejor estudiado. En España había sido ya citado en *H. meridionalis* y *R. perezii* de las Islas Canarias y ahora ha aparecido en la zona llana de Ávila, por lo que se trata de una nueva cita de área geográfica.

4.2.2.22. *Balantidium duodeni* Stein, 1867

Se localiza en la parte anterior del intestino delgado (duodeno). Es un organismo de forma muy ancha y corto. La superficie ventral tiene forma muy convexa y la dorsal, plana o ligeramente cóncava. El vestibulo es profundo y se encuentra fuertemente curvado. Los cilios que están próximos a la zona adoral son casi idénticos a los del resto del cuerpo. Las filas oblicuas de kinetias son prolongaciones de las filas somáticas en el lado izquierdo, mientras que en el lado derecho hay alguna especialización y discontinuidad. El macronúcleo es ovalado o subesférico. Posee una vacuola contráctil sencilla (Foto 49).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>B. duodeni</i>	Media: (µm)	Desviación ±
Longitud total	62	3
Anchura máxima	53	5
Longitud citostoma	31	4
Anchura citostoma	5	1
Longitud macronúcleo	19	1
Anchura macronúcleo	12	1

Medidos 10 ejemplares.

B. duodeni es un protozoo muy frecuente en la rana común de Ávila ya que se encuentra en el 70,8 %, pero, sin embargo, su intensidad media de parasitación es muy baja, 1,3, siendo muy regular, tanto con relación a la edad y sexo, como en las estaciones o localidades (Tabla 39).

Tabla 39

<i>B. duodeni</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	HEM	MAC	RAN	REN	PRI	OTO	VER	S.TO	ALB	NIH	RÍO	LAC	MAR	
Nº +	135	171	0	0	90	92	124	12	18	42	107	100	27	306
I. M.	1,3	1,3	0,0	0,0	1,4	1,3	1,2	1,1	1,3	1,1	1,3	1,4	1,0	1,3
P. (%)	77,6	74,7	0,0	0,0	79,6	77,3	62,0	80,0	78,3	71,2	70,4	70,4	65,9	70,8

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marlín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

En la tabla se puede apreciar que sólo los adultos están infectados por este parásito, alrededor de las tres cuartas partes de las ranas adultas, con una prevalencia muy similar entre hembras y machos. Sin embargo no hemos encontrado ningún rastro de él, ni en las ranitas ni en los renacuajos.

En las distintas estaciones del año, los niveles de parasitación varían, con unos valores semejantes en primavera y otoño de alrededor del 78% y un valor inferior en verano, del 62,0%.

Las localidades también varían en cuanto a la prevalencia, que oscila entre el 80% de S.Tomé y el 65,9% de Marlín.

Esta especie está muy distribuida por Eurasia pero, en España, sólo ha sido citada en *R. perezi* de las Islas Canarias. Nosotros la hemos encontrado en la zona llana de Ávila, por lo tanto se trata de una nueva cita de área geográfica.

4.2.2.23. *Balantidium entozoon* Ehrenberg, 1838

Se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal). Es un organismo de forma ovalada o piriforme, el extremo anterior es más estrecho y el posterior tiene forma de domo o cúpula. Todo el cuerpo está cubierto de cilios holotricos, dispuestos en líneas longitudinales, que convergen en los labios del vestíbulo, donde los cilios son notablemente más largos. El vestíbulo, que es una depresión cónica, está situado ligeramente oblicuo con respecto a la línea media, y doblado hacia el interior, a la altura del ecuador. No se aprecia el vestíbulo claramente y la continuidad de las kinetias somáticas y vestibulares no son claras. Está provisto de un área peristómica que se extiende hacia abajo y continúa en un esófago bien definido. El macronúcleo es arriñonado y lleva el micronúcleo en una depresión lateral que no se aprecia en el

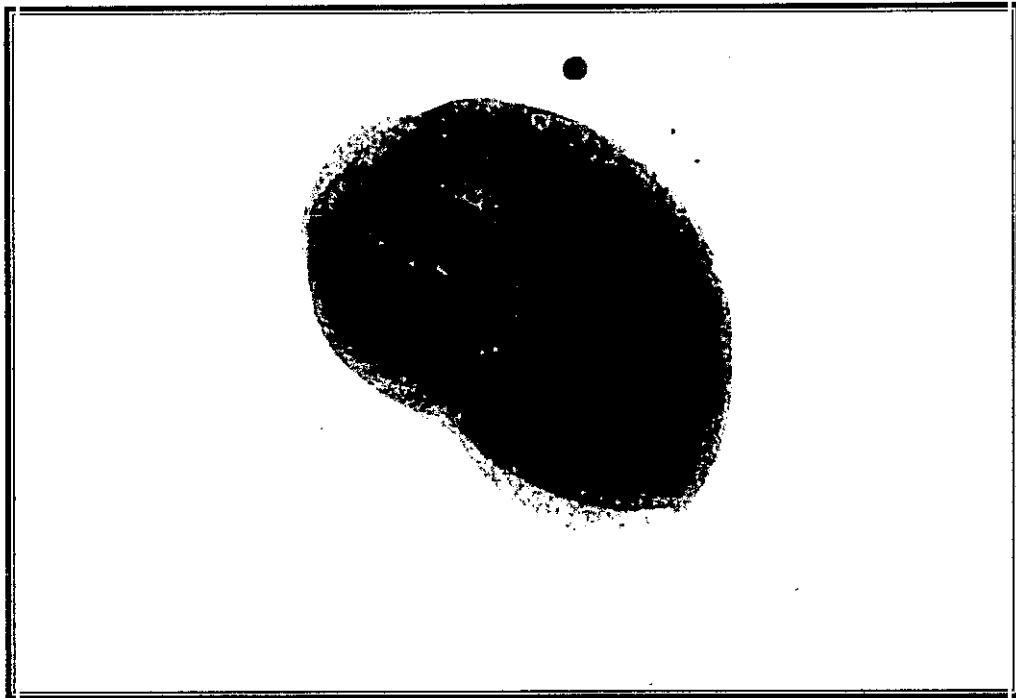


FOTO 48: *Nyctotheroides cordiformis* (900 x).

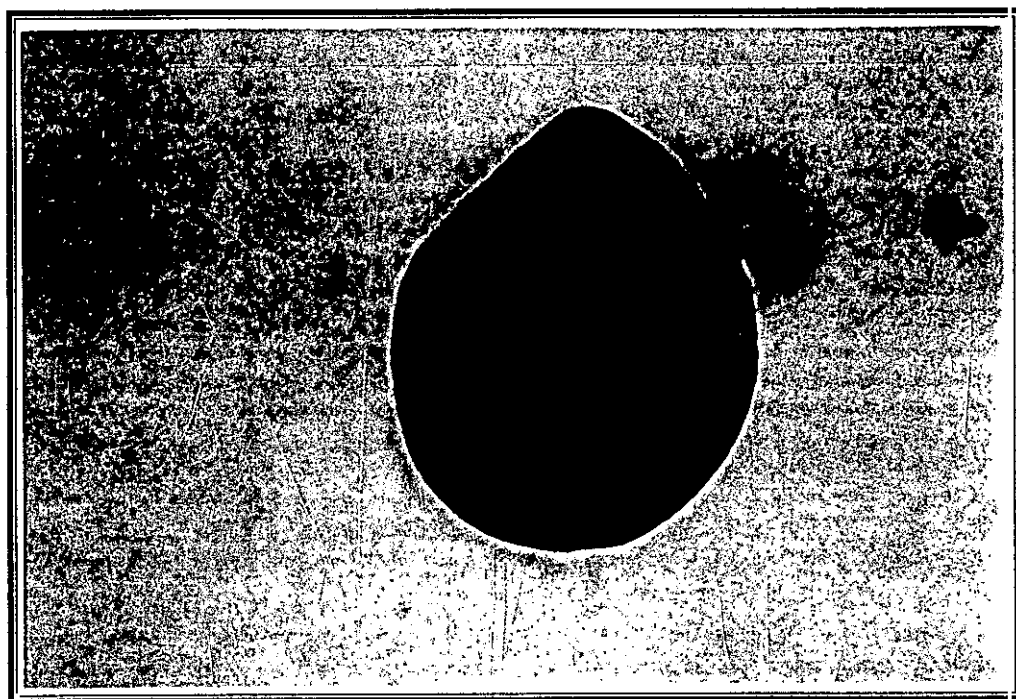


FOTO 49: *Balantidium duodeni* (900 x).

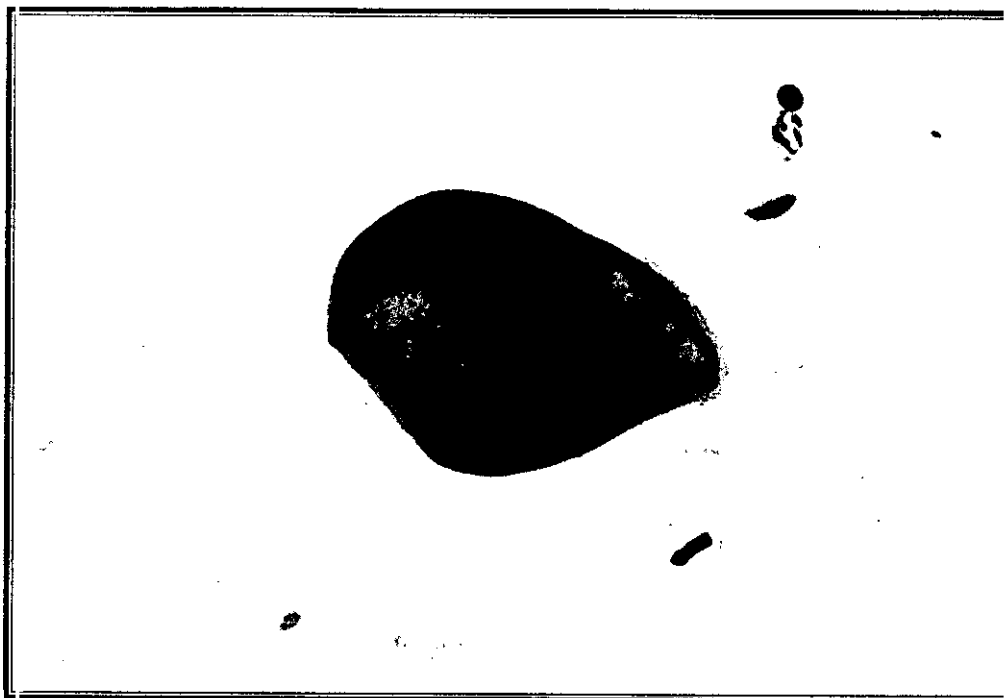


FOTO 50: *Balantidium entozoon* (900 x).

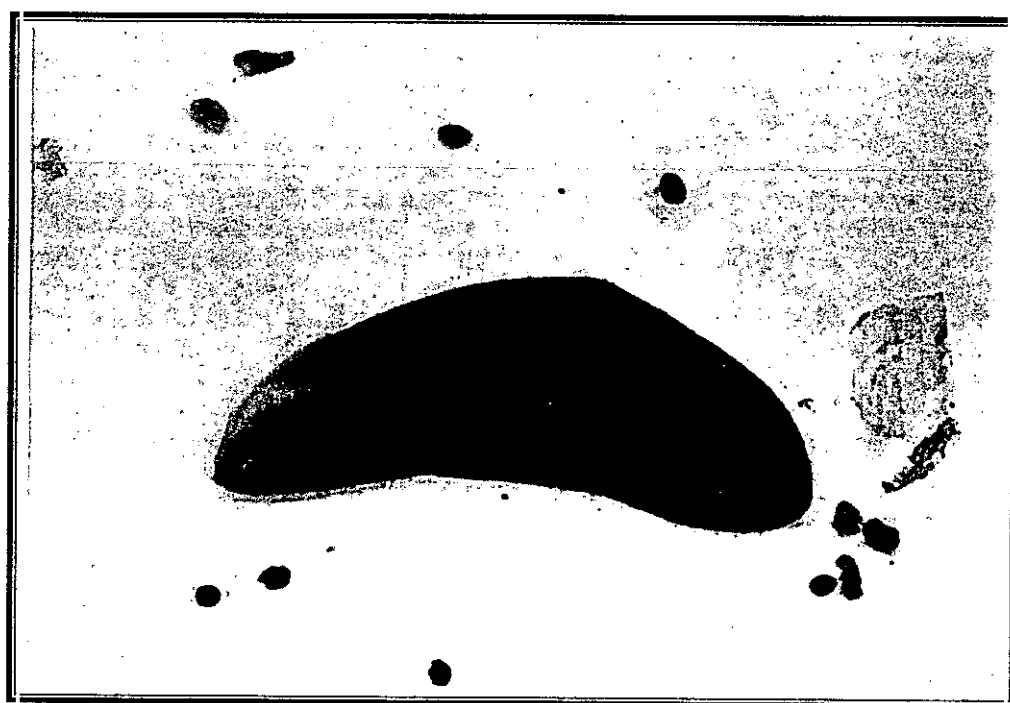


FOTO 51: *Balantidium elongatum* (900 x).

organismo viviente. Tiene 4 grandes vacuolas contráctiles. Aparentemente poseen un citopigio que no es permanente, pero las heces son descargadas, de tiempo en tiempo, siempre por el mismo lugar. La reproducción asexual se produce por escisión transversal. Nadan girando sobre su eje y comprimen su cuerpo elástico ante los obstáculos (Foto 50). Este organismo puede redondearse y formar quistes subesféricos de 30 μm de diámetro.

Las medidas presentadas por diversos autores varían notablemente de unos casos a otros.

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>B. entozoon</i>	Media (μm)	Desviación \pm
Longitud total	79	15
Anchura máxima	52	9
Longitud citostoma	35	3
Anchura citostoma	8	1
Longitud del macronúcleo	25	7
Anchura del macronúcleo	18	4
Longitud del micronúcleo	5	1
Anchura del micronúcleo	4	1

Medidos 10 ejemplares.

B. entozoon es más frecuente en la rana común de Ávila que *B. duodeni* ya que se encuentra en el 80,3% de las ranas, pero su intensidad media de parasitación es igual que en el caso anterior, con tan sólo un 1,3 de media por rana (Tabla 40).

Tabla 40

<i>B.ento</i>	Sexo/Edad				Estación				Localidad					Total
	MAC	HEM	RAN	REN	PRI	OTO	VER	NIH	LAG	S.TO	RÍO	MAR	ALB	
N° +	198	147	2	0	98	101	148	50	119	12	121	30	15	347
I.M.	1,2	1,3	1,0	0,0	1,3	1,3	1,2	1,5	1,3	1,0	1,2	1,0	1,2	1,3
P. (%)	86,5	84,5	14,3	0,0	86,7	84,9	74,0	84,7	83,8	80,0	79,6	73,2	65,2	80,3

N° +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marlín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomás.

B. entozoon, a diferencia de *B. duodeni*, sí se encuentra en las ranas jóvenes, con una prevalencia del 14,3%, porcentaje mucho más bajo que en los adultos, con alrededor del 85% de parasitación, pero al igual que en *B. duodeni* esta prevalencia es muy similar entre hembras y machos y es nula en los renacuajos.

En relación con la época del año, igual que en *B. duodeni*, los niveles de parasitación son mayores en primavera y menores en verano, con 86,7% y 74,0% respectivamente.

Según las localidades, el porcentaje de infección varía ligeramente oscilando entre el 84,7% de Niharra y el 65,2% de Albornos, un intervalo muy semejante al de *B. duodeni*.

B. entozoon se encuentra muy distribuido por toda Europa, pero en España sólo se ha citado en los trabajos de Fernández-Galiano (sin mencionar el hospedador ni la zona) y en *H. meridionalis* y *R. perezi* de las Islas Canarias. Al haber aparecido en la zona llana de Ávila, se trata de una nueva cita de área geográfica.

4.2.2.24. *Balantidium elongatum* Stein, 1867

Se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal). Tiene forma cilíndrica u oval, con la terminación anterior más o menos afilada y la posterior redondeada. La longitud del cuerpo es de 2 a 3 veces su anchura máxima que se localiza en la mitad del cuerpo. El área peristómica es estrecha, corta, y se encuentra en posición media, sin ninguna distinción en citofaringe, extendiéndose hacia abajo, hasta la cuarta parte de la longitud corporal. El citoplasma no está marcado claramente en la región cortical y medular (con una apariencia granular densa). El macronúcleo es oval, a veces algo mellado y situado cerca de la terminación posterior del cuerpo. El micronúcleo está cerca del macronúcleo. Los cilios son finos con una longitud uniforme, dispuestos en filas longitudinales muy juntas y los que están próximos a la zona adoral son casi idénticos a los del resto del cuerpo. De 2 a 3 vacuolas están presentes, una de ellas más grande que las otras y se encuentran muy cerca de la terminación posterior, al igual que el ano (Foto 51).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>B. elongatum</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	117	11
Anchura máxima	54	7
Longitud citostoma	42	2
Anchura citostoma	13	0
Longitud macronúcleo	27	3
Anchura macronúcleo	16	2

Medidos 10 ejemplares.

B. elongatum es el de menor prevalencia de las tres especies de *Balantidium*, con el 7,9% de las ranas infectadas. Su intensidad media de parasitación es también menor que en los dos casos anteriores (1,1), aunque también muy constante con relación al sexo, edad, estaciones y localidad. Se puede decir que es un ciliado muy poco frecuente en la rana común de Ávila (Tabla 41).

Tabla 41

<i>B. elo</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	HEM	MAC	RAN	REN	PRI	OTO	VER	NIH	RÍO	MAR	ALB	LAG	S.TO	
Nº +	16	18	0	0	15	12	7	8	18	2	1	5	0	34
I-M	1,0	1,2	0,0	0,0	1,1	1,1	1,1	1,0	1,2	1,0	1,0	1,2	0,0	1,1
P.(%)	9,2	7,9	0,0	0,0	13,3	10,1	3,5	13,6	11,8	4,9	4,3	3,5	0,0	7,9

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

B. elongatum al igual que *B. duodeni* sólo se encuentra en las ranas adultas, con una prevalencia muy similar entre hembras y machos (ligeramente mayor en las hembras) y no aparece ni en las ranitas (a diferencia de *B. entozoon*, que sí se encuentra) ni en los renacuajos. También cabe destacar que aunque la intensidad media de parasitación es muy baja, los índices de mayor prevalencia se corresponden con una menor intensidad de parasitación y viceversa.

Con relación a las épocas del año, el porcentaje de infección varía, con unos valores semejantes en primavera y otoño, alrededor del 12% y un valor inferior en verano, 3,5%.

Según las localidades, al igual que en *B. duodeni* y en *B. entozoon*, la prevalencia varía ligeramente, en este caso, entre unos valores del 13,6% en Niharra y el 3,5% en S.Pedro (laguna), estando ausente en S.Tomé.

Este protozoo se encuentra muy distribuido por Europa y en España, sólo ha sido citada en los trabajos de Fernández-Galiano sobre *Balantidium* sin especificar ni en que localidad, ni en que hospedador se ha encontrado. Por lo tanto, nosotros lo damos como una nueva cita de hospedador en *R. perezi* y de área geográfica en Ávila.

4.2.2.25. *Trichodina ranae* Da Cunha, 1950

Se localiza en la vejiga urinaria. El cuerpo tiene forma cilíndrica o de campana y posee una constricción en la parte media, que desaparece o se debilita en las preparaciones fijadas debido a la expansión que sufren. Poseen un disco basal adhesivo bien desarrollado que constituye la cápsula o ventosa de fijación interior y que está fuertemente invaginada. El anillo de sostén de la ventosa o disco de fijación es esquelético con denticulos o dienteillos en forma de "V", colocados radialmente y apoyándose los unos en los otros. La cápsula tiene un velo interno bien desarrollado. Insertado en la periferia del velo interno se encuentra una membrana orbicular compuesta por cilios, que actúa como aparato locomotor. El peristoma está compuesto por una zona ciliar adoral, con 2 filas de cilios colocados en espiral, que rodea el cuerpo y da una vuelta y media aproximadamente. El diámetro de la superficie basal de fijación es más grande que la de la región peristómica. Presenta membranelas y vacuolas

pulsátiles de dimensiones medias que se encuentran cerca del vestíbulo. El aparato nuclear está constituido por un macronúcleo, en forma de "U" y un micronúcleo excéntrico, situado cerca de una de las extremidades del macronúcleo (Foto 52).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>T. ranae</i>	Media (µm)	Desviación ±
Altura	39	8
Diámetro	33	5
Longitud del macronúcleo	67	11
Anchura del macronúcleo	14	2
Longitud del micronúcleo	3	1
Anchura del micronúcleo	3	0

Medidos 10 ejemplares.

T. ranae es un ciliado que se encuentra en más de la mitad de las ranas de Ávila ya que aparece en el 58,6% de los casos, y, además, con un parasitación por rana alta, con 2,3 de intensidad media (Tabla 42).

Tabla 42

<i>T. ran</i>	Sexo/Edad				Estación					Localidad				Total
	HEM	REN	RAN	MAC	PRI	VER	OTO	ALB	S.TO	RÍO	MAR	NIH	LAG	
Nº +	107	9	8	129	75	117	61	23	15	103	27	25	60	253
I. M.	2,5	2,0	1,5	2,2	2,1	2,3	2,5	2,3	2,4	2,1	1,9	2,8	2,6	2,3
P. (%)	61,5	60,0	57,1	56,3	66,4	58,5	51,3	100	100	67,8	65,9	42,4	42,3	58,6

Nº +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Con relación a la edad y sexo de la rana, no se aprecia mucha diferencia en el porcentaje de infección, pero sí en su intensidad media, siendo mayor en las hembras y menor en los renacuajos, con 2,5 y 1,5 respectivamente.

Según las estaciones del año los valores de prevalencia e intensidad media son muy semejantes, pero es curioso observar como la estación con mayor prevalencia es la que tiene menor intensidad (primavera, 66,4% y 2,1) y viceversa, la estación con menor prevalencia, es la de mayor intensidad (otoño, 51,3%, 2,5).

Sin embargo dependiendo de las localidades, varía mucho el porcentaje de parasitación y la intensidad, encontrándonos dos zonas con el 100% de prevalencia, Albornos y S.Tomé, y zonas donde su porcentaje es menor de la mitad, como Niharra y

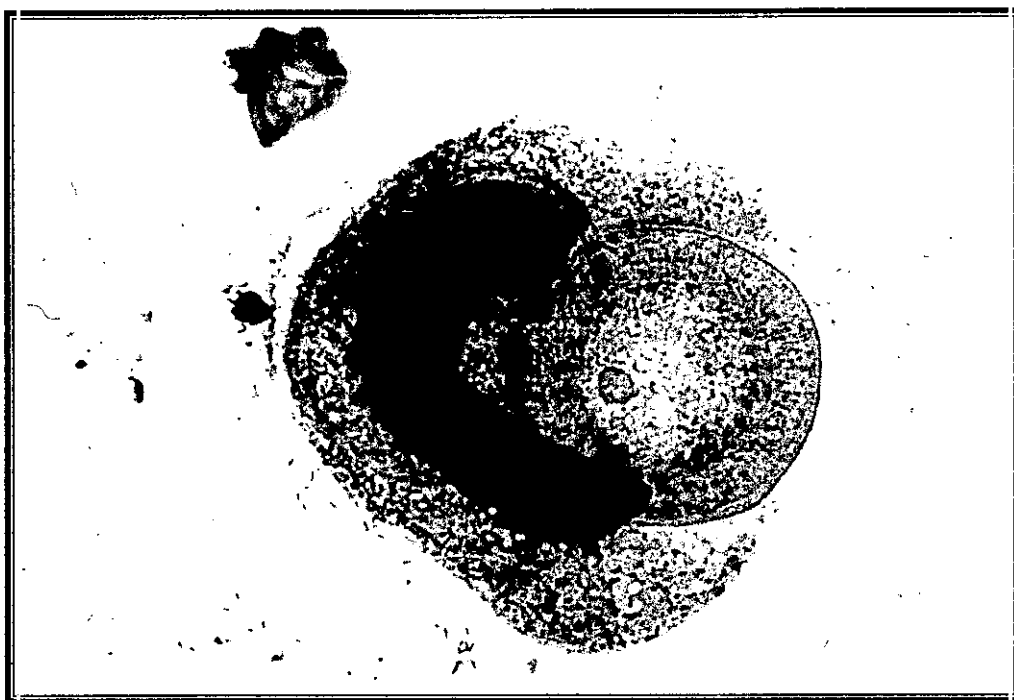


FOTO 52: *Trichodina ranae* (3150 x).

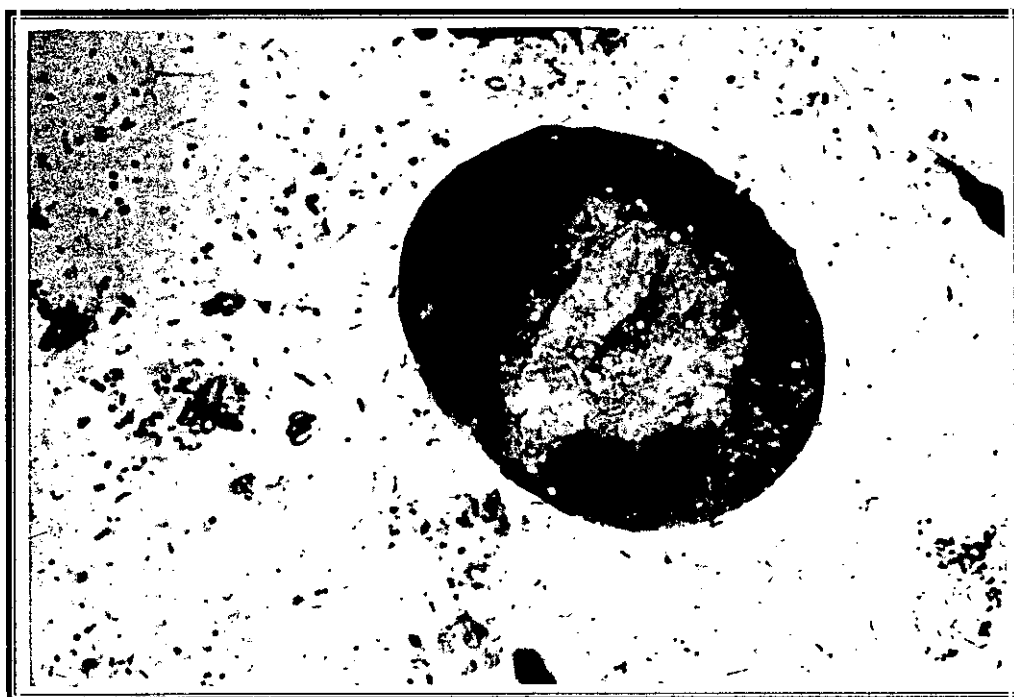


FOTO 53: *Blastocystis enterocola* (3150 x). En heces.

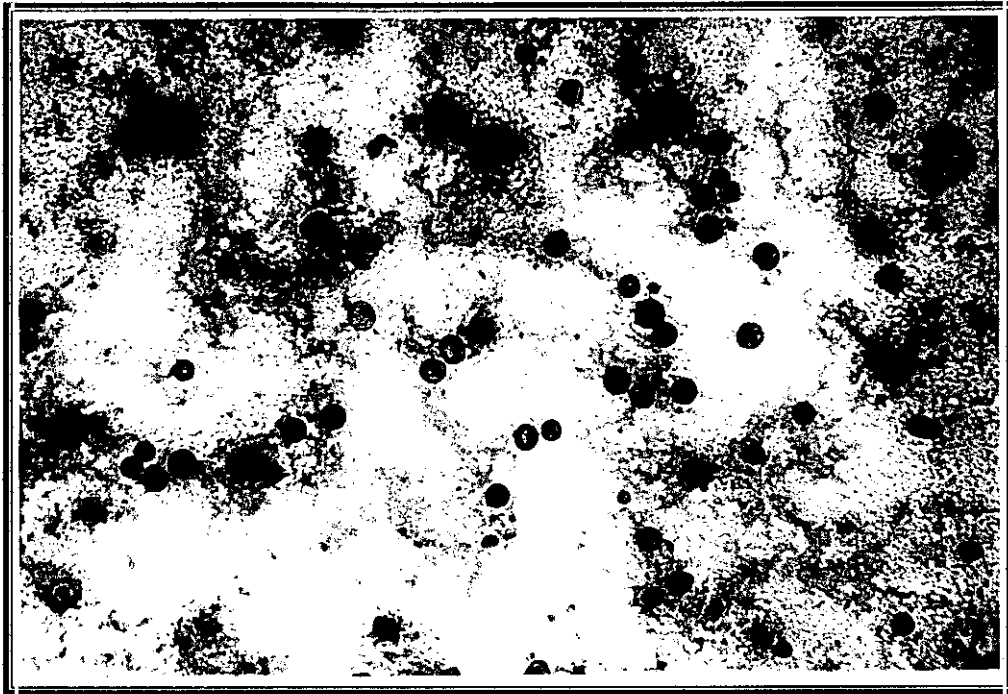


FOTO 54: *Blastocystis enterocola* (225 x). En cultivo (vista general).

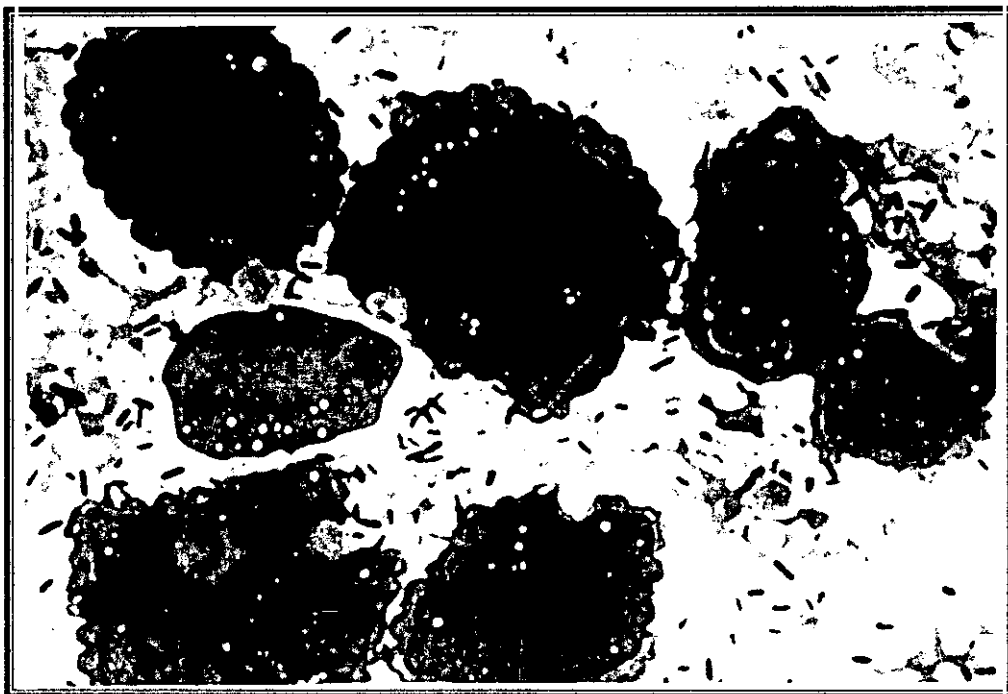


FOTO 55: *Blastocystis enterocola* (3150 x). En cultivo (quistes).

San Pedro (laguna), con 42,4% y 42,3% respectivamente. En este caso, la intensidad y prevalencia no guardan ninguna relación.

T. ranae está muy distribuida por Europa y en la Península Ibérica ha sido mencionada en *Rana* sp. de Portugal y en *R. perezii* de las Islas Canarias. Nosotros la hemos encontrado en la zona llana de Ávila y por lo tanto se trata de una nueva cita de área geográfica.

4.2.2.26. *Blastocystis enterocola* Alexeieff, 1911

Son microesferas verdosas o incoloras de talla muy variable de 2 a más de 200 μm . Tienen varias formas:

- La forma **vacuolar** ha sido considerada como la forma típica celular. Es la forma predominante en los cultivos y también se encuentra en las heces. Tiene forma esférica con una gran vacuola central, aunque también están presentes en muestras de cultivo blastocistis de forma irregular. La vacuola central contiene gránulos finos distribuidos por todo el interior. Posee una banda citoplasmática periférica rodeando la vacuola. Estas áreas citoplásmicas pueden introducirse en la vacuola central o extenderse fuera dando una forma irregular. Los orgánulos normalmente se encuentran en las áreas gruesas del citoplasma y a menudo, aparecen en polos opuestos del cuerpo. Hay múltiples núcleos (entre 1 y 32), aproximadamente dos a dos, colocados en puntos opuestos o diseminados por toda la superficie cuando son muy numerosos. En algunos blastocistis puede aparecer una cubierta superficial mucilaginosa e hialina que los rodee (Foto 53 y 54).
- La forma **granular** es similar a la forma vacuolar pero con un contenido diferente en la vacuola central y ligeramente más grande. La vacuola contiene gránulos de varios tipos morfológicos que todavía no se sabe muy bien qué son. Zierdt (1993) piensa que esta vacuola es en realidad un órgano reproductivo, que da origen a las células hijas, pero esto no ha sido demostrado.
- La forma **multivacuolar** posee múltiples y pequeñas vacuolas de diferentes tamaños y formas. Es más pequeña que la vacuolar. Tiene un núcleo y en ocasiones dos. Una envoltura superficial gruesa rodea al cuerpo en las muestras fecales y es mucho más gruesa que la encontrada en los cultivos.
- La forma **avacuolar** es más pequeña, aproximadamente 5 μm de diámetro y no contiene una vacuola central. Posee de uno a dos núcleos ligeramente más grandes que la forma vacuolar; los orgánulos semejantes a mitocondrias también son distintos y no está rodeada por una cubierta.
- La forma **ameboide** tiene una forma irregular, uno o dos núcleos en el centro del cuerpo y a menudo, pseudópodos extendidos. No se ha visto una vacuola central grande, aparato de Golgi, mitocondrias, ni cubierta superficial. Sí se han observado bacterias en orgánulos semejantes a lisosomas, dentro del citoplasma, que parecían

ser digeridas por ellos. Sing y col. (1995) han sugerido que la forma ameboide es un intermediario entre la forma vacuolar y la quística en *B. hominis*, pero esto no ha sido probado. También indicaban que las bacterias eran ingeridas por la forma ameboide para proveer nutrición en el proceso de enquistamiento.

- La forma **quística**, es una pequeña forma de resistencia que se encuentra en los cultivos. Está rodeada de una gruesa pared multilaminar. Tiene un citoplasma condensado con algunas vacuolas pequeñas, múltiples orgánulos semejantes a mitocondrias, reservas de glucógeno y lípidos (Foto 55).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la siguiente tabla:

<i>B. enterocola</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	28	8
Anchura máxima	27	8
Longitud núcleo	2	1
Anchura núcleo	2	1

Medidos 10 ejemplares.

B. enterocola es un protozoo que se encuentra en algo más de la mitad de las ranas con un 51,6% de prevalencia y con una intensidad media alta, 2,3, por lo que se deduce que es bastante común en las ranas de Ávila (Tabla 43).

Tabla 43

<i>B. ente</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	HEM	MAC	RAN	REN	PRI	VER	OTO	S.TO	MAR	RIO	LAG	NIH	ALB	
N° +	98	123	1	1	79	112	32	14	32	108	61	8	0	223
I. M.	2,4	2,2	1,0	1,0	2,5	2,2	2,3	2,4	2,6	2,3	2,1	2,3	0,0	2,3
P. (%)	56,3	53,7	7,1	6,7	69,9	56,0	26,9	93,0	78,0	71,1	43,0	13,6	0,0	51,6

N° +: Número de ranas positivas a la infección por este protozoo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (1-3).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Con relación a la edad, podemos observar que la prevalencia y la intensidad media es mucho mayor en los adultos que en los jóvenes, siendo estos valores bastante similares entre ellos (jóvenes alrededor del 7% y 1,0 mientras que los adultos es del 55% y 2,3).

Según las distintas estaciones vemos que según avanza el año el porcentaje de parasitación disminuye, ligeramente de primavera a verano (de 69,9 a 56,0) y hasta la mitad en otoño (26,9) aunque con una intensidad muy semejante durante todo el año.

Con respecto a las localidades, este parásito varía muchísimo encontrándose en casi todas las ranas de S.Tomé (93,0%) en casi la mitad de S.Pedro (laguna) (43,0%) y en ninguna de Albornos. En Marlín y S.Pedro (río) su prevalencia es muy alta (78,0 y 71,1 respectivamente) y en Niharra muy baja (13,6%). La intensidad media es más regular, oscilando entre el 2,1 en S.Pedro (laguna) y el 2,6 en Marlín.

La designación de especies de *Blastocystis* y la diferenciación de éstas, todavía no ha sido resuelta adecuadamente. Según un comunicado personal de D. Stenzel y R. Boreham nuestros ejemplares muestran una morfología muy inusual pero no se puede citar una nueva especie de blastocistis basándose sólo en la morfología porque existe mucha variación entre todos los aislados de blastocistis.

También hemos observado que necesitan una temperatura óptima de cultivo muy distinta a la de *B. hominis* (22°C), lo que indican que no se trata de esta especie.

Teow et al (1991) ha diferenciado una nueva especie, *B. lapemi* aislado de una serpiente, basándose en sus diferentes requerimientos óptimos de temperatura para su crecimiento (24°C en lugar de 37°C) y en su distinto cariotipo comparado con *B. hominis*.

En 1911, Alexeieff describe por primera vez un blastocistis al que llamó *B. enterocola* de *Bufo vulgaris*, *Triton cristiguisuga* y *Cercopithecus ruber*. Un año más tarde, Brumpt considera a los ejemplares de *Bufo vulgaris* como *B. bufonis* y Aragao (1922) describe blastocistis de ranas pero con el nombre de *Blastocystis* sp. Por último *B. enterocola* pasó a ser un sinónimo de *B. hominis*.

Nosotros creemos que nuestros ejemplares son muy similares a los blastocistis que describen estos autores y que por tanto estas dos especies no pueden ser sinónimas (tienen distinta morfología y temperatura de cultivo), por lo que recuperamos el nombre de *B. enterocola* para los ejemplares de *R. perezii* de Ávila.

Sin embargo, serán necesarios futuros trabajos bioquímicos o de biología molecular para corroborar esto, aunque estas técnicas no han sido bien definidas ni incluso para aislados humanos de blastocistis.

4.2.3. OTROS PROTOZOOS ENCONTRADOS EN ANFIBIOS IBÉRICOS

- *Balantidium galianoi* Fernández Galiano, 1951, en *Pleurodeles waltlii* de Madrid.
- *Hypotrichomonas acosta* (Moskowitz, 1951) Lee, 1960 en *Hyla meridionalis* de Canarias.
- *Protoopalina spinosa* Fernández Galiano, 1951, en *Pleurodeles waltlii* de Madrid.
- *Tritrichomonas augusta* Chatton et Brachon, 1936 en *H. meridionalis* y *R. perezii* de Canarias.

4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE TREMATODOS

4.3.1. GENERALIDADES

De las ranas estudiadas, 117 resultaron estar parasitadas por trematodos, lo que supone una prevalencia del 27,1%. Esta infestación puede ser (en orden decreciente): simple (por una sola especie de trematodos), doble (por dos especies), triple (por tres) o cuádruple (por cuatro) (Tabla 44).

Tabla 44

TREMATODOS	Nº Ranas	%
Sin infestar	315	72,9
Simple	74	17,1
Doble	32	7,4
Triple	9	2,1
Cuádruple	2	0,5
Total infestadas	117	27,1

Se han identificado un total de seis especies de trematodos, cuya localización es:

1. *Opisthodocus nigrivasis* (Méhely, 1929) Odening, 1959, en el intestino grueso.
2. *Haematoloechus variegatus* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899, en los pulmones.
3. *Cephalogonimus retusus* (Dujardin 1845) Odhner, 1910, en el intestino delgado y colédoco.
4. *Gorgodera amplicava* Looss, 1899, en la vejiga urinaria.
5. *Gorgoderina vitelliloba* Olsson, 1876, en la vejiga urinaria.
6. *Opisthioglyphe endoloba* (Dujardin, 1845) Looss, 1899, en el intestino delgado.

El número total de trematodos encontrados fue de 761, con una intensidad media de parasitación de 4,1 trematodos por rana infestada. Las especies más frecuentes por orden decreciente fueron: *C. retusus*, *G. vitelliloba*, *O. nigrivasis*, *G. amplicava*, *H. variegatus* y *O. endoloba* y las de mayor intensidad media fueron: *G. amplicava*, *C. retusus*, *G. vitelliloba*, *O. endoloba*, *H. variegatus* y *O. nigrivasis* (Tabla 45).

Tabla 45

	<i>C. ret</i>	<i>G. vit</i>	<i>O. nig</i>	<i>G. amp</i>	<i>H. var</i>	<i>O. end</i>	Trematodos
Nº INDIV.	434	162	68	57	24	16	761
INT. MED.	7,1	4,8	1,4	7,1	1,7	2,7	4,1

Nº INDIV: Número de individuos de esa especie que han aparecido en las 432 ranas.

INT. MED: Intensidad media de parasitación en las 432 ranas.

C. re: *Cephalogonimus retusus*.

G. vit: *Gorgoderina vitelliloba*.

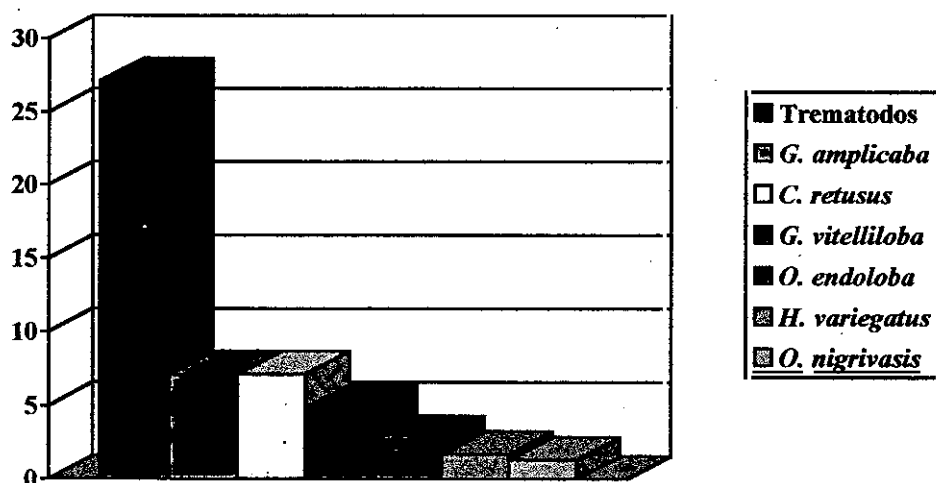
O. nig: *Opisthodiscus nigrivasis*.

G. amp: *Gorgodera amplicava*.

H. va: *Haematoleechus variegatus*.

O. end: *Opisthioglyphe endoloba*.

Gráfica 5: Prevalencia de Trematodos.



En la tabla 46 y gráfica 5 se muestra la prevalencia y en la tabla 47 la intensidad media. Esta intensidad indica el número de ejemplares encontrados en una rana. Cada tabla se expresa a su vez por edad, sexo, la estación y la localidad donde se recogieron las ranas.

Tabla 46

Prevalencia (%)	C. ret	O. nig	G. vit	H. var	G. amp	O. end	TREMA
SEXO/EDAD							
RANITA	50,0	7,1	0,0	0,0	0,0	0,0	50,0
HEMBRA	18,9	17,7	12,0	5,7	2,9	2,3	35,4
MACHO	8,7	7,9	5,7	1,3	1,3	0,9	20,1
RENACUAJO	6,7	0,0	0,0	6,7	0,0	0,0	13,3
ESTACIÓN							
OTOÑO	16,8	26,1	1,7	5,9	0,0	4,2	33,6
VERANO	14,0	7,5	10,5	3,0	3,0	0,5	27,5
PRIMAVERA	11,5	3,5	9,7	0,9	1,8	0,0	19,5
LOCALIDAD							
NIHARRA	54,2	69,5	1,7	15,3	1,7	6,8	91,5
S.TOME	66,7	26,7	13,3	0,0	13,3	0,0	80,0
MARLEIN	29,3	0,0	43,9	2,4	0,0	0,0	48,8
RÍO	3,3	1,3	7,9	2,0	2,0	0,7	15,1
LAGUNA	1,4	1,4	0,7	0,7	1,4	0,7	4,9
ALBORNOS	0,0	4,3	0,0	0,0	0,0	0,0	4,3
TOTAL							
432 RANAS	14,1	11,6	7,9	3,2	1,9	1,4	27,1

TREMA: Trematodos.

G. amp: *Gorgoderina amplicava*.C. re: *Cephalogonimus retusus*.G. vit: *Gorgoderina vitelliloba*.O. end: *Opisthioglyphe endoloba*.H. va: *Haematoloechus variegatus*.O. nig: *Opisthodiscus nigrivasis*.

Los primeros datos relevantes de la tabla nos muestran que en general las ranas están poco parasitadas por trematodos, alrededor de un cuarto de la población (27,1%).

Con respecto al sexo y edad, las ranitas son las más parasitadas, la mitad de ellas infestadas; a quince puntos de distancia se encuentran las ranas hembras (35,4%) y a treinta, las ranas machos (20,1%). Los renacuajos están poco parasitados, con 13,3%.

En cuanto a la estación del año, se puede observar que la infestación es muy semejante en todas las estaciones, siendo ligeramente mayor en otoño, con 33,6% y ligeramente inferior en primavera, con el 19,5% de parasitación.

Sin embargo, las localidades muestran un alto grado de variabilidad en su prevalencia, siendo las de mayor porcentaje Niharra, con 91,5 % y S.Tomé, con 80,0% y las de menor porcentaje S.Pedro y Albornos, con 4,9% y 4,3%, respectivamente. Esta variación tan grande entre las localidades puede deberse a factores biológicos, especialmente a la presencia o ausencia de los hospedadores intermediarios de estos trematodos.

Tabla 47

Intensidad Media	G. amp	C. ret	G. vit	O. end	H. var	O. nig
SEXO/EDAD						
RANITA	3,8	6,8	4,1	2,0	1,5	1,3
HEMBRA	12,7	7,5	5,8	4,0	2,3	1,5
MACHO	12,7	7,5	5,8	4,0	2,3	1,5
RENACUAJO	0,0	2,0	0,0	0,0	2,0	0,0
ESTACIÓN						
OTOÑO	1,5	9,5	5,7	0,0	1,0	1,0
VERANO	1,5	9,5	5,7	0,0	1,0	1,0
PRIMAVERA	0,0	5,2	1,0	1,8	1,4	1,4
LOCALIDAD						
NIHARRA	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0
S.TOME	0,0	5,8	6,1	0,0	1,0	0,0
MARLÍN	3,0	7,3	1,0	2,0	2,0	1,3
RÍO	6,5	8,0	2,0	0,0	0,0	1,0
LAGUNA	1,3	4,6	3,3	7,0	1,3	3,0
ALBORNOS	18,5	13,5	7,0	1,0	1,0	2,0
TOTAL						
432 RANAS	7,13	7,11	4,76	2,67	1,71	1,36

G. amp: *Gorgoderina amplicava*.

C. re: *Cephalogonimus retusus*.

G. vit: *Gorgoderina vitelliloba*.

O. end: *Opisthioglyphe endoloba*.

H. va: *Haematoloechus variegatus*.

O. nig: *Opisthodiscus nigrivasis*.

También hay que destacar que con las ranas venían distintos tipos de caracoles: *Physella* sp., *Gyraulus* sp. y *Theodoxus* sp. No hemos podido determinar si alguno pueden actuar como hospedador intermediario de alguna especie de trematodo.

4.3.2. DESCRIPCIÓN DE LOS TREMATODOS ENCONTRADOS

4.3.2.1. *Opisthodiscus nigrivasis* (Méhely, 1929) Odening, 1959

Se localiza en intestino grueso (ampolla rectal). El cuerpo es de color blanquecino, tiene forma de campana y los movimientos son lentos y contráctiles en dirección dorso ventral. La cutícula no posee espinas. La boca se comunica con una faringe que lleva por fuera una estructura circular que la rodea y está situada en el extremo anterior del cuerpo. La terminación posterior de la faringe forma un par de sacos globulares faríngeos. Entre estos sacos, la faringe se abre a un esófago largo y estrecho, en cuyo extremo posterior hay un bulbo que en reposo tiene forma de pera, pero cuando se mueve hacia arriba y hacia abajo adquiere más o menos, una forma esférica y dobla su diámetro. Sus paredes son muy gruesas y con fibras circulares, lo que le permite contraerse, reforzando los movimientos del bulbo. En su base hay un estrechamiento muy pronunciado que continúa con una protuberancia alargada longitudinalmente, de musculatura más débil, de la cual salen dos ramas laterales estrechas que están conectadas a los ciegos intestinales. Los ciegos se extienden hasta la ventosa posterior, tienen paredes gruesas y, normalmente, están llenos de una sustancia marrón-amarillenta que les hace resaltar más. En algunos individuos hay una ligera asimetría entre las ramas cecales. El aparato excretor es el más visible debido a unos gránulos negros que contiene y a los movimientos de esos gránulos por las contracciones ocasionales de los tubos excretores. La fuerte pigmentación de este sistema llega a ser más débil o desaparece cuando el trematodo se fija o se tiñe. La ventosa posterior es grande y redondeada y tiene un anillo ancho con una ventosa accesoria asimétrica de color rojizo. En la superficie interior de la ventosa posterior se ven estriaciones y yemas pequeñas. Los testículos están situados lado con lado, directa u oblicuamente, enfrente del ovario y cerca de la superficie ventral, mientras que el ovario se encuentra más hacia la zona dorsal. Al lado del ovario, ligeramente más abajo y perpendicular a él están la glándula de Mehlis y el canal de Laurer, los cuales llevan una dirección contraria al ootipo. El útero es intracecal, cuando está lleno de huevos se extiende desde la bifurcación cecal hasta más allá de la terminación de los ciegos. Los huevos son elípticos y contienen numerosas células dentro de una envoltura transparente. El saco del cirro es claviforme y relativamente delgado y pequeño. Dentro se encuentra una vesícula seminal ligeramente ondulada. El cirro y la terminación del útero confluyen en un atrio genital situado enfrente de la bifurcación esofágica, entre el bulbo y el saco faríngeo, a la derecha y paralelo a la línea media del cuerpo. La distancia del poro excretor y el extremo anterior del cuerpo es menor de 1 mm. Las glándulas vitelógenas son foliculares y están situadas lateral y a menudo extracecalmente. Se extienden desde el saco faríngeo hasta el final de los ciegos y normalmente confluyen en la línea media del cuerpo, en la parte posterior. Hay entre 38-45 folículos (Foto 56).

Según Simón-Vicente (1974) su hospedador intermediario es *Ancylastrum* sp. (molusco).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la tabla siguiente.

<i>O. nigrivasis</i>	Media (μ m)	Desviación \pm
Longitud x Anchura	3295 x 1763	1146 x 467
Ventosa oral	376	105
Ventosa ventral	1763	467
Faringe	700 x 365	225 x 96
Testículo 1	235 x 240	30 x 49
Testículo 2	215 x 245	46 x 29
Ovario	238 x 213	57 x 13
Ciegos	2268	907
Huevos	105 x 59	3 x 3

Medidos 10 ejemplares

Este trematodo es muy poco frecuente en la rana común de Ávila ya que sólo hemos encontrado un total de 68 ejemplares de *O. nigrivasis* distribuidos en el 11,6% de las ranas, con una intensidad media de parasitación de 1,4 individuos por rana (entre 1 y 3). Esta intensidad es más o menos constante independientemente del sexo, edad, estación o localidad (Tabla 48).

Tabla 48.

<i>O. nig</i>	Sexo/Edad				Estación				Localidad					Total
	HEM	MAC	RAN	REN	OTO	VER	PRI	NIH	S.TO	ALB	LAG	RÍO	MAR	
Nº +	31	18	1	0	31	15	4	41	4	1	2	2	0	50
I. M.	1,3	1,5	1,0	0,0	1,4	1,4	1,0	1,3	1,0	1,0	2,0	3,0	0,0	1,4
P. (%)	17,7	7,9	7,1	0,0	26,1	7,5	3,5	69,5	26,7	4,3	1,4	1,3	0,0	11,6

Nº +: Número de ranas positivas a la infestación por este trematodo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (número de trematodos).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marlín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

La tabla refleja que las ranas hembras están mucho más parasitadas que las ranas machos y estos con una prevalencia semejante a las ranitas mientras que no se encuentran en renacuajos.

Con relación a las distintas estaciones del año, los niveles de parasitación se duplican en verano, con respecto a la primavera y se triplica en otoño, con respecto al verano, lo que indica una diferencia de casi el 23% entre la primavera y el otoño.

Centrándonos en las localidades donde se han obtenido las ranas, podemos observar que en Niharra el nivel de infestación se aproxima al 70%, índice muy superior al de S.Tomé, 26,7% y sobre todo al de Albornos y S.Pedro con menos del 5% de infestación.

Posiblemente, la baja intensidad media de parasitación sea debido a su gran tamaño en relación con su pequeño hábitat (ciego intestinal) que impide que se desarrollen un número grande de individuos.

Según Nadal y col (1968) *O. nigrivasis* es muy específico de *R. perezi* y es muy probable que esté distribuido por toda la Península Ibérica. Su presencia en Ávila (Sierra de Gredos) había sido señalada con anterioridad por Navarro y col. (1987, 1991) en *R. ibérica* y en *Bufo bufo gredosicola*. Nosotros la hemos encontrado en *Rana perezi* de la zona llana de Ávila.

4.3.2.2. *Haematoloechus variegatus* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899

Se localiza en los pulmones. El cuerpo es alargado, casi cilíndrico y la anchura es casi un tercio de su longitud. Tiene una cutícula lisa. La ventosa oral es subterminal y la ventral ligeramente preecuatorial y menor que la oral. La prefaringe es muy corta, la faringe tampoco es muy larga y el esófago es delgado y de longitud media. Los ciegos intestinales son sinuosos, relativamente anchos y llegan casi hasta el extremo posterior del cuerpo. El poro genital está situado en un lateral, a la altura de la unión de la faringe con los ciegos intestinales. La bifurcación del intestino se encuentra enfrente de la ventosa ventral. La bolsa del cirro es alargada y tubular igualmente situada enfrente de la ventosa ventral y contiene el cirro, la glándula prostática y una vesícula seminal sinuosa. Los testículos son elípticos alargados, situados lado con lado o ligeramente diagonales y se localizan en el tercer cuarto del cuerpo y en situación postovárica. El ovario tiene forma oval o algo lobulado y el borde anterior llega a nivel del borde superior del acetábulo, situado por encima de los testículos y a un lado de la ventosa ventral. El receptáculo seminal es redondeado y se encuentra situado a la misma altura del ovario. Las glándulas de Mehlis son grandes. El útero descendente es mediano, intracecal, con ondulaciones transversales y el útero ascendente tiene pliegues extracecales gruesos. Las glándulas vitelógenas forman de 10 a 12 grupos de rosetas con 6 ó 7 folículos cada uno, desde el esófago hasta el extremo posterior y por detrás del útero. Los huevos son operculados y de color marrón oscuro (Foto 57).

Según Prudhoe y Bray (1982), el primer hospedador intermediario es un caracol y el segundo, una larva de culicido.

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la tabla siguiente.

<i>H. variegatus</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud x Anchura	6785 x 1450	1512 x 217
Ventosa oral	405	97
Ventosa ventral	241	49
Faringe	163 x 155	48 x 56
Testículo 1	550 x 373	273 x 220
Testículo 2	670 x 340	361 x 214
Ovario	520 x 363	175 x 164
Ciegos	6063	1472
Huevos	25 x 16	3 x 3

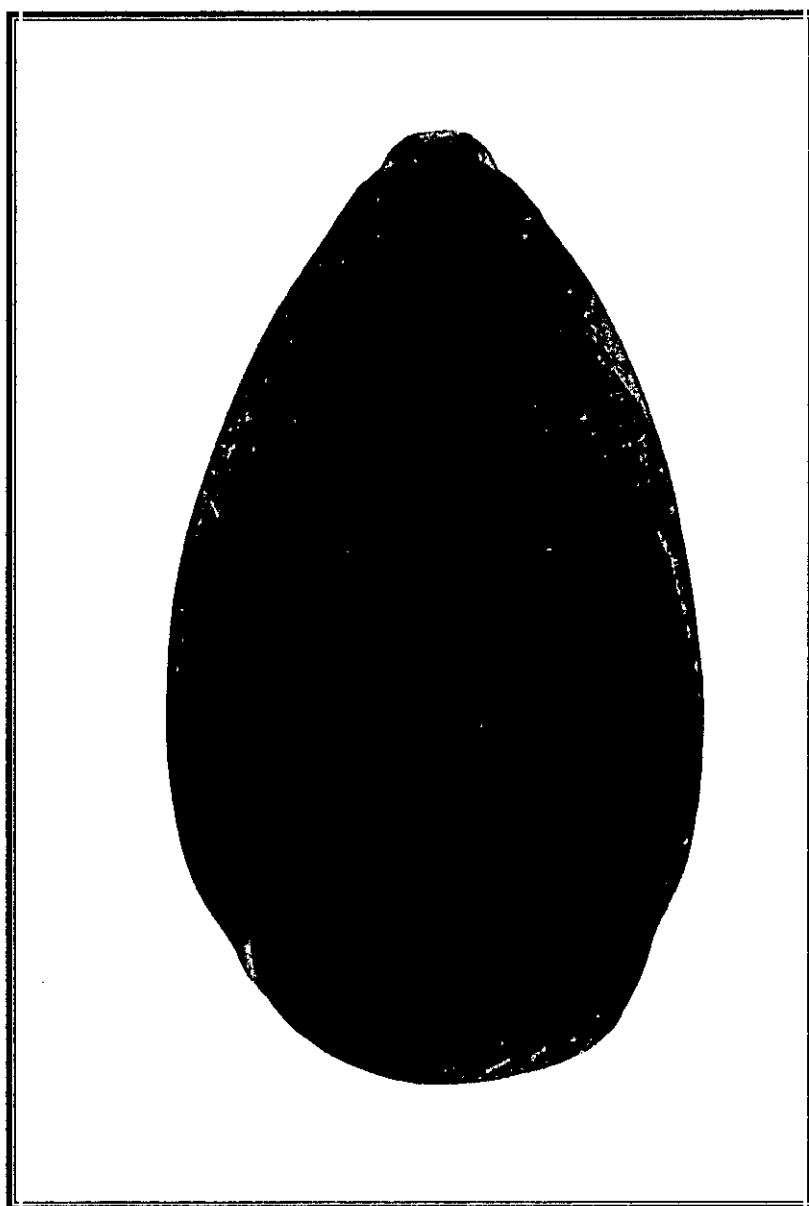


FOTO 56: *Opisthodiscus nigrivasis* (45 x).

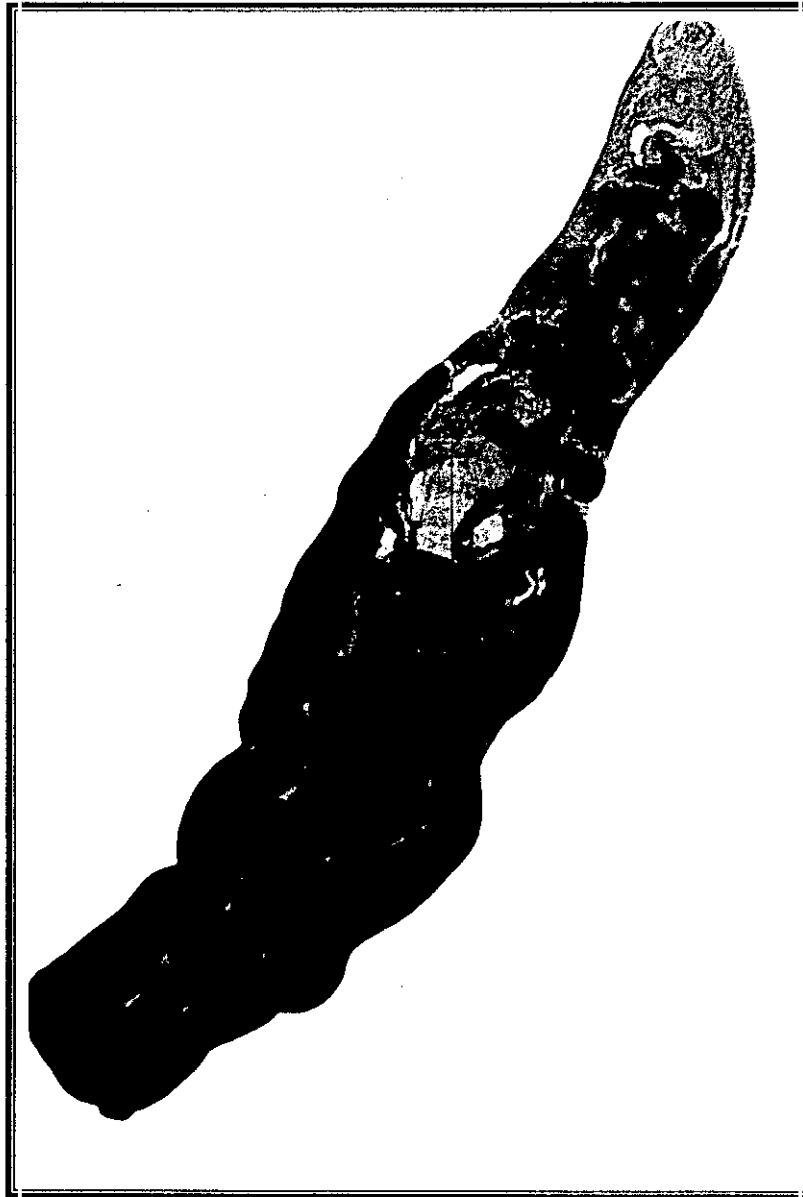


FOTO 57: *Haematoloechus variegatus* (45 x).

H. variegatus es un trematodo muy poco frecuente en la rana común de Ávila ya que sólo se han encontrado 24 ejemplares de esta especie distribuidos en el 3,2 % de las ranas y una intensidad media de parasitación de 1,7 individuos por rana (entre 1-5, más frecuente, 1). Esta intensidad es más o menos constante independientemente del sexo, edad, estación o localidad de la rana (Tabla 49).

Tabla 49

H. var	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	REN	HEM	MAC	RAN	OTO	VER	PRI	NIH	MAR	RIO	LAG	ALB	S.TO	
Nº +	1	10	3	0	7	6	1	9	1	3	1	0	0	14
I.M.	2,0	1,5	2,3	0,0	1,4	2,2	1,0	2,0	1,0	1,3	1,0	0,0	0,0	1,7
P. (%)	6,7	5,7	1,3	0,0	5,9	3,0	0,9	15,3	2,4	2,0	0,7	0,0	0,0	3,2

Nº +: Número de ranas positivas a la infestación por este trematodo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (número de trematodos).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marlín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Con relación a otros casos, es curioso observar la mayor prevalencia en los renacuajos que en los adultos (dentro de este grupo los valores más altos corresponden a las hembras) y su ausencia en las ranitas. El hábitat natural de estos trematodos son los pulmones y éstos se encuentran muy poco desarrollados en los renacuajos, pero aún así su prevalencia es mayor, aunque también hay que considerar que el muestreo de los renacuajos es mucho menor que el de los adultos y por eso con un sólo renacuajo infestado su prevalencia es mayor. Otro dato que hay que apuntar es que hemos encontrado redias de un trematodo en los pulmones de varios renacuajos, lo que nos hace suponer que se trate de *H. variegatus* y podamos considerar a éstos también como hospedadores intermediarios de esta especie.

Dentro de los distintos periodos del año analizados, observamos que la mayor infestación se da en otoño con un porcentaje del 5,9%, ligeramente inferior en verano, 3,0% y con niveles muy bajos en primavera, no alcanzando el 1%.

Según las distintas localidades, Niharra es la zona con mayor prevalencia con 15,3% de parasitación mientras que en el resto de las zonas su presencia es escasa (Marlín y S. Pedro) o nula (Albornos y S. Tomé).

Su intensidad media también es muy baja, ésto nos hace pensar que podría ser debido a su gran tamaño pero

los pulmones (su hábitat natural) aunque son pequeños también son muy dilatables.

Es una especie cosmopolita, que ha sido citada en repetidas ocasiones en la Península Ibérica incluyendo la zona de Ávila (Sierra de Gredos), por Combes y Knoepffler (1965) en *R. perezii*.

Otra especie que tiene un área de distribución conocida, restringida a la Sierra de Gredos, es *Haematoloechus carbonelli* Lluch, Navarro y Pérez-Soler, 1991. Es especialmente abundante en los circos glaciales más altos y a partir de su hospedador

habitual, *Rana ibérica*, aunque Navarro y col (1991) encuentran también a este trematodo en las zonas más bajas de la Sierra de Gredos, en *Bufo bufo gredosicola*.

PARAMETROS (µm)	<i>H. carbonelli</i>	Nuestros ejemplares	<i>H. variegatus</i>
Longitud	4250-4530	5270-8300	8000-10000
Anchura	1050-1380	1230-1670	1200-1400
Ventosa oral	150-325 x 150-375	308-502	470 x 440
Ventosa ventral	145-164 x 137-146	191-290	320-380
Faringe	150-225 x 175-375	115-210 x 99-211	210-230
Testículo 1	625-858 x 276-375	377-823 x 152-593	1000 x 500
Testículo 2	575-868 x 225-475	310-1030 x 130-550	1200 x 540
Ovario	700-725 x 306-376	354-695 x 198-527	600 x 370
Huevos	22-28 x 14-17	21-28 x 14-19	28-30 x 16-18

Las dos especies se han encontrado en Ávila (Sierra de Gredos), pero según se muestra en la tabla, nuestros ejemplares están más próximos a la especie *H. variegatus* que a *H. carbonelli*. Por lo tanto también en la llanura de Ávila aparece *H. variegatus* en *R. perezi*.

4.3.2.3. *Cephalogonimus retusus* (Dujardin, 1845) Odhner, 1910

Se localiza a lo largo del intestino delgado y en el colédoco. El cuerpo es pequeño, blanquecino, algo amarillento en la mitad posterior por la acumulación de huevos, oval, alargado, más delgado por delante y escotado en el extremo posterior donde se abre el poro excretor. La cutícula está rodeada por espinas finas. La ventosa oral es subterminal, presentando dorsal y anteriormente una pequeña prominencia hemisférica donde se sitúa el poro genital, mostrando en algunos ejemplares algún huevo saliente. La ventosa ventral es un poco menor que la oval y se encuentra en el tercio anterior del cuerpo. La prefaringe es corta y la faringe está a continuación de la ventosa oral. El esófago tiene forma de "Y" invertida y es bastante corto. Los ciegos intestinales son también cortos, están algo ensanchados posteriormente y llegan hasta el ecuador. La bifurcación cecal está casi enfrente de la ventosa ventral. La bolsa del cirro es relativamente grande conteniendo el cirro inerte, la glándula prostática y una gran vesícula seminal ovoide que llega hasta la ventosa ventral. Los testículos son ovales, contiguos, intracecales y situados ligeramente detrás de la ventosa ventral. El ovario es esférico, intracecal y pretesticular, ubicado en el lado opuesto a la bolsa del cirro. La coquiliaria y el receptáculo seminal son postováricos. El poro genital se encuentra al nivel de la boca, en la superficie dorsal del cuerpo. El canal de Laurer está presente. Las glándulas vitelógenas están formadas por numerosos folículos laterales, extracecales casi todos, que se localizan entre las ventosas oral y ventral, llegan hasta el nivel del testículo anterior, avanzan, cruzan la bolsa del cirro y continúan hasta el útero. El útero está formado por numerosas circunvoluciones, en su mayoría postanales, existiendo algunas intracecales hasta los testículos a los que bordea y sobrepasa. Los huevos son

operculados de color amarillo-pardusco o anaranjado, algo mayores los inmaduros contenidos en el útero, por detrás del acetábulo. La vesícula excretora tiene forma de "V", con vértice generalmente ancho, situado en la escotadura posterior del cuerpo y rodeado de glandulitas más teñidas (Foto 58).

Según Prudhoe y Bray (1982), el primer hospedador intermediario es un caracol y el segundo, un renacuajo.

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la tabla siguiente.

<i>C. retusus</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud x Anchura	1602 x 519	623 x 131
Ventosa oral	196	50
Ventosa ventral	136	37
Faringe	72 x 46	15 x 7
Testículo 1	170 x 130	43 x 42
Testículo 2	171 x 123	59 x 26
Ovario	97 x 85	31 x 23
Ciegos	619	304
Huevos	31 x 15	2 x 2

Medidos 10 ejemplares.

434 ejemplares de *C. retusus* componen la muestra que analizamos a continuación. Su prevalencia es del 14,1% y su intensidad media de parasitación, de 7,1 individuos por rana (entre 1-34). Esto significa que este trematodo no es frecuente en la rana común de Ávila, aunque su intensidad media es alta (Tabla 50).

Tabla 50

<i>C. ret.</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
Nº +	RAN	HEM	MAC	REN	OTO	VER	PRI	S.TO	NIH	MAR	RÍO	LAG	ALB	
Nº +	7	33	20	1	20	28	13	10	32	12	5	2	0	61
I. M.	8,3	6,8	7,5	2,0	5,2	7,4	9,5	8,0	7,3	5,8	4,6	13,5	0,0	7,1
P. (%)	50,0	18,9	8,7	6,7	16,8	14,0	11,5	66,7	54,2	29,3	3,3	1,4	0,0	14,1

Nº +: Número de ranas positivas a la infestación por este trematodo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (número de trematodos).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marlín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Los primeros datos relevantes de la tabla nos llevan a una prevalencia en las ranitas muy elevado ya que alcanza el 50% y, mientras que en los adultos el nivel más alto corresponde a las hembras (18,9%), en los machos, el índice de parasitación no alcanza el 9%. En los renacuajos el porcentaje de parasitación se sitúa tan sólo en el

6,7%, a pesar de que según afirman Prudhoe y Bray el segundo hospedador intermediario es un renacuajo. La intensidad media también es más alta en las ranitas con 8,3, aunque este valor es muy semejante al de los adultos y mucho más alto con respecto a los renacuajos, donde sólo tiene un 2,0 de intensidad.

Con relación a las diferentes épocas del año, podemos decir que la prevalencia viene a ser más o menos la misma marcándose el valor superior en otoño (con un 16,8%) y el inferior en primavera (11,5%) y sin embargo la intensidad media es al contrario, mayor en verano y menor en otoño (7,4 y 5,2 respectivamente)

La zona con mayor infestación es S.Tomé con 66,7%, seguido de Niharra y Marlin. Los valores señalados en S.Pedro son muy bajos, menos del 3,5% y no se ha detectado su presencia en Albornos. La intensidad media también va disminuyendo con respecto a la prevalencia excepto en S.Pedro (laguna) donde se da la máxima intensidad, 13,5%.

El mayor número de individuos por rana puede ser debido a su pequeño tamaño y a su hábitat, el colédoco y el intestino delgado, que es muy largo y se pueden acumular muchos trematodos.

Esta especie es muy común en toda la Península Ibérica y ha sido mencionada en Ávila (Sierra de Gredos) por Combes y Knoepffler (1965) en *R. perezi*. Nosotros la citamos en la zona llana de Ávila.

4.3.2.4. *Gorgodera amplicava* Looss, 1899

Se localiza en la vejiga urinaria. El cuerpo es fusiforme y blanquecino. La cutícula es lisa, más gruesa en la parte dorsal y tercio anterior ventral; finamente estriado en los dos tercios posteriores. La ventosa oral es subterminal y su interior es ligeramente escamoso. La ventosa ventral se encuentra situada en el cuarto anterior del cuerpo y en su cara ventral, es muy prominente y de doble diámetro que la oral, con plaquitas y células intensamente coloreadas en su fondo. No tiene faringe y el esófago es largo. Los ciegos intestinales son sencillos y llegan hasta cerca del extremo posterior del cuerpo. El poro genital es preacetabular, mediano, se continúa con el vaso deferente, tiene una vesícula seminal globosa y se encuentra rodeado de glándulas prostáticas. Los testículos se encuentran disociados en nueve lóbulos, cuatro más anteriores a la izquierda y cinco más posteriores a la derecha, distribuidos intracecalmente a los lados del cuerpo. El ovario es trilobulado y postacetabular. Las glándulas vitelógenas son ligeramente preováricas, fuertemente lobuladas o disociadas en dos o tres grupos de folículos, con alguno más aislado. El útero está constituido por un tubo delgado repleto de huevos, que describe numerosas circunvoluciones y se extiende desde el poro genital hasta la extremidad posterior. Los huevos son amarillentos y elípticos (Foto 59).

Según indica Yamaguti (1975), *Musculium partumeium* (molusco) y *Helisoma antrosum* (caracol) fueron determinados por Loos (1894) como primer y segundo hospedador intermediario respectivamente.



FOTO 58: *Cephalogonimus retusus* (126 x).



FOTO 59: *Gorgodera amplicava* (63 x).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la tabla siguiente.

<i>G. amplicava</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud x Anchura	3145 x 718	862 x 383
Ventosa oral	265	23
Ventosa ventral	445	69
Testículos (9)	208 x 130	50 x 19
Ovario	251 x 190	38 x 36
Ciegos	2683	807
Huevos	30 x 17	1 x 2

Medidos 10 ejemplares.

Se han encontrado un total de 57 ejemplares de *G. amplicava* distribuidos en el 1,9% de las ranas, con una intensidad media de parasitación de 7,1 individuos por rana (entre 1-23), por lo que se deduce que este trematodo está apenas presente en la rana común de Ávila (Tabla 51).

Tabla 51

<i>G. amp</i>	Sexo/Edad				Estación					Localidad				Total
	HEM	MAC	RAN	REN	VER	PRI	OTO	S.TO	RÍO	NIH	LAG	ALB	MAR	
Nº +	5	3	0	0	6	2	0	2	3	1	2	0	0	8
I.M.	3,8	12,7	0,0	0,0	9,0	1,5	0,0	6,5	1,3	3,0	18,5	0,0	0,0	7,1
P. (%)	2,9	1,3	0,0	0,0	3,0	1,8	0,0	13,3	2,0	1,7	1,4	0,0	0,0	1,9

Nº +: Número de ranas positivas a la infestación por este trematodo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (número de trematodos).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marlín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Se observa que *G. amplicava* sólo se encuentra en las ranas adultas y en mayor porcentaje en las hembras que en los machos (2,9% y 1,3% respectivamente), aunque con una intensidad cuatro veces menor (3,8 y 12,7 respectivamente).

Con respecto a las estaciones, verano es la época que presenta una mayor prevalencia (3,0%) e intensidad media (9,0) y primavera, la menor, con 1,8% y 1,5 respectivamente aunque es en otoño donde sus valores son nulos.

La localidad con mayor infestación es S.Tomé que se diferencia notablemente del resto ya que alcanza el 13,3% mientras que en S.Pedro y Niharra apenas alcanzan el 2% y sin embargo S.Pedro (laguna) es la de mayor intensidad media con 18,5.

En la Península Ibérica sólo ha sido mencionada *Gorgoderia circava* var. *granatensis* González-Castro, 1942. Este autor vio que la longitud, anchura, diámetro de las ventosas, forma del ovario, número de lóbulos de las glándulas vitelógenas y dimensiones de los huevos presentaban diferencias, aunque no muy considerables y que estas diferencias no son suficientes para crear una nueva especie sino, mas bien,

variaciones europeas de *Gorgoderia circava* debidas a las condiciones ambientales (distintas de Norteamérica) y al diferente hospedador. Sin embargo, los autores posteriores recogen esta variedad como una nueva especie: *Gorgoderia granatensis* González-Castro, 1942 sin mencionar quién, ni por qué la eleva a este rango y además consideran a la especie *Gorgoderia circava* como sinónimo de *Gorgoderia amplicava*.

La comparación de nuestros ejemplares con *G. circava* Guberlet (1920) de América del Norte y *G. circava* var. *granatensis* González Castro, 1942 en *R. esculenta* (que posiblemente sea *R. perezi*) de la Península Ibérica, se muestran en la siguiente tabla:

PARAMETROS (µm)	<i>G. circava</i>	Nuestros ejemplares	<i>G. circava</i> var. <i>granatensis</i>
Longitud	2500-3700	2280-4000	2800-4300
Anchura	500-650	330-1100	990-790
Ventosa oral	300-370	240-300	320-410
Ventosa ventral	600-750	370-510	600-610
Testículos (9)	4 + 5	4 + 5	4 + 5
Ovario	forma trilobulado	variable	variable
G. vitelógenas	2 x 6-8	2 x 7	2 x 5-9
Huevos	30 x 23	29-31-x 15-19	30-36 x 22-20
Hospedador	<i>Rana catesbiana</i>	<i>Rana perezi</i>	<i>Rana perezi</i>
País	Norteamérica	España (Ávila)	España (Granada)

Nuestros ejemplares se ajustan más a las medidas de las especies norteamericanas que a las europeas, por lo tanto no consideramos que pertenezcan a *Gorgoderia circava* var. *granatensis*, sino a *Gorgoderia circava*, especie sinónima, hoy en día, de *Gorgoderia amplicava*.

Estamos de acuerdo con Lluch y Roca y Navarro (1986) que consideran (al igual que Combes, Knoepffler y Sarrouy, 1965 y 1971) que el género *Gorgoderia* tiene un alto grado de variabilidad en los caracteres considerados de valor sistemático, lo que hace deseable una exhaustiva revisión del género.

4.3.2.5. *Gorgoderina vitelliloba* Olsson, 1876

Se localiza en la vejiga urinaria. El cuerpo es ligeramente alargado, con forma de lanceta. La cutícula es lisa. La ventosa ventral sobrepasa los márgenes laterales del cuerpo. Los testículos están pareados, no subdivididos, ovalados y con bordes ligeramente curvados. El ovario tiene forma irregular, más o menos lobulado, situado enfrente de los testículos. Las glándulas vitelógenas están pareadas, formando de 2 a 3 lóbulos. Las otras características son similares a *Gorgoderia* pero los huevos son más pequeños.

Según Combes (1968) *Sphaerium* sp. o *Pisidium* sp. (moluscos) es el primer hospedador intermediario y *Sialis lutaria* (insecto), el segundo. Lees y Mitchell (1964)

encontraron que el sitio preferido de *G. vitelliloba* eran los riñones en el renacuajo y la vejiga urinaria en las ranas (Foto 60).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la tabla siguiente.

<i>G. vitelliloba</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud x Anchura	3763 x 525	1018 x 129
Ventosa oral	278	53
Ventosa ventral	550	113
Testículo 1	393 x 290	142 x 85
Testículo 2	545 x 315	227 x 62
Ovario	230 x 208	73 x 64
Ciegos	3163	288
Huevos	33 x 20	3 x 1

Medidos 10 ejemplares.

G. vitelliloba es un trematodo poco frecuente en la rana común de Ávila ya que tan sólo se han encontrado 162 ejemplares distribuidos en el 7,9% de las ranas. Otro dato que nos lleva a confirmar este punto es que la intensidad media de parasitación es de 4,8 individuos por rana (entre 1-15) (Tabla 52).

Tabla 52

<i>G. vit</i>	Sexo				Edad			Estación			Localidad					Total
	HEM	MAC	RAN	REN	VER	PRI	OTO	MAR	S.TO	RÍO	NIH	LAG	ALB			
Nº +	21	13	0	0	21	11	2	18	2	12	1	1	0			34
I.M.	4,1	5,8	0,0	0,0	4,6	5,7	1,0	6,1	2,0	3,3	1,0	7,0	0,0			4,8
P. (%)	12,0	5,7	0,0	0,0	10,5	9,7	1,7	43,9	13,3	7,9	1,7	0,7	0,0			7,9

Nº +: Número de ranas positivas a la infestación por este trematodo. I. M.: Intensidad media de parasitación (número de trematodos). P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marlín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

G. vitelliloba al igual que *G. amplicava* no se ha detectado en las formas juveniles, solo en las adultas, con mayor prevalencia en las hembras (el doble que en los machos), aunque con menor intensidad media (4,1 y 5,8 respectivamente). Otro dato que debemos destacar es que no hemos encontrado rastros de *G. vitelliloba* en los riñones de los renacuajos, a pesar de que Lees y Mitchell (1964) indican que es su localización habitual.

Al igual que *G. amplicava*, *G. vitelliloba* tiene una prevalencia mayor en verano y menor en otoño, 1,7%, aunque a diferencia de ésta, la mayor intensidad se da en primavera y la menor en otoño (5,7 y 1,0 respectivamente).

La localidad con mayor prevalencia es Marlín, con casi la mitad de las ranas parasitadas (43,9%), seguido muy de lejos por S. Tomé, S. Pedro (río), Niharra y S. Pedro

(laguna), estando ausente en Albornos. Este orden decreciente en los valores de las zonas es el mismo que el de *G. amplicava* (con excepción de Marlín) y también S. Pedro (laguna) es la localidad con mayor intensidad media, 7,0.

Esta especie es muy común en toda la Península Ibérica y ha sido mencionado en *R. perezi* de otras localidades, y en Ávila (Sierra de Gredos) por Combes y Knoepffler (1965) en *R. iberica*, *R. ridibunda* y *B. bufo* y por Navarro y col. (1987, 1991) en *R. iberica* y *Bufo bufo gredosicola*. Nosotros la hemos encontrado en *Rana perezi* de la zona llana de Ávila.

4.3.2.6. *Opisthioglyphe endoloba* (Dujardin, 1845) Looss, 1899

Se localiza a lo largo del intestino delgado. El cuerpo es pequeño, oval, alargado y un poco adelgazado por delante. La ventosa ventral es más grande que la ventosa oral. La faringe es larga, un poco más que la ventosa oral. Las glándulas vitelógenas forman una masa compacta en el espacio intercecal posttesticular. Los testículos están dispuestos en tandem y son elípticos en posición horizontal. La bolsa del cirro sobrepasa por la parte superior el borde de la ventosa ventral. El poro genital no está en posición media sino al nivel de la bifurcación de los ciegos intestinales. La vesícula tiene forma de "Y", cuyo pie es más largo que los brazos y la bifurcación se da en el borde superior del testículo anterior (Foto 61).

Según recoge Yamaguti (1975), el hospedador intermediario más favorable es *Lymnaea* (caracol) y los renacuajos pueden actuar como segundo hospedador.

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la tabla siguiente.

<i>O. endoloba</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud x Anchura	1330 x 380	351 x 62
Ventosa oral	91	8
Ventosa ventral	121	17
Faringe	61 x 51	1 x 8
Testículo 1	145 x 84	25 x 31
Testículo 2	155 x 104	50 x 33
Ovario	88 x 91	19 x 36
Ciegos	993	310
Huevos	36 x 27	1 x 2

Medidos 3 ejemplares.

El trematodo *O. endoloba* es el menos frecuente en la rana común de Ávila. A esta conclusión nos ha llevado el estudio de los 16 ejemplares encontrados, de los cuales sólo 3 eran adultos y el resto eran estados jóvenes, sin órganos sexuales desarrollados. La prevalencia es del 1,4% y la intensidad media de parasitación es de 2,7 individuos por rana (entre 1-7) (Tabla 53).



FOTO 60: *Gorgoderina vitelliloba* (90 x).

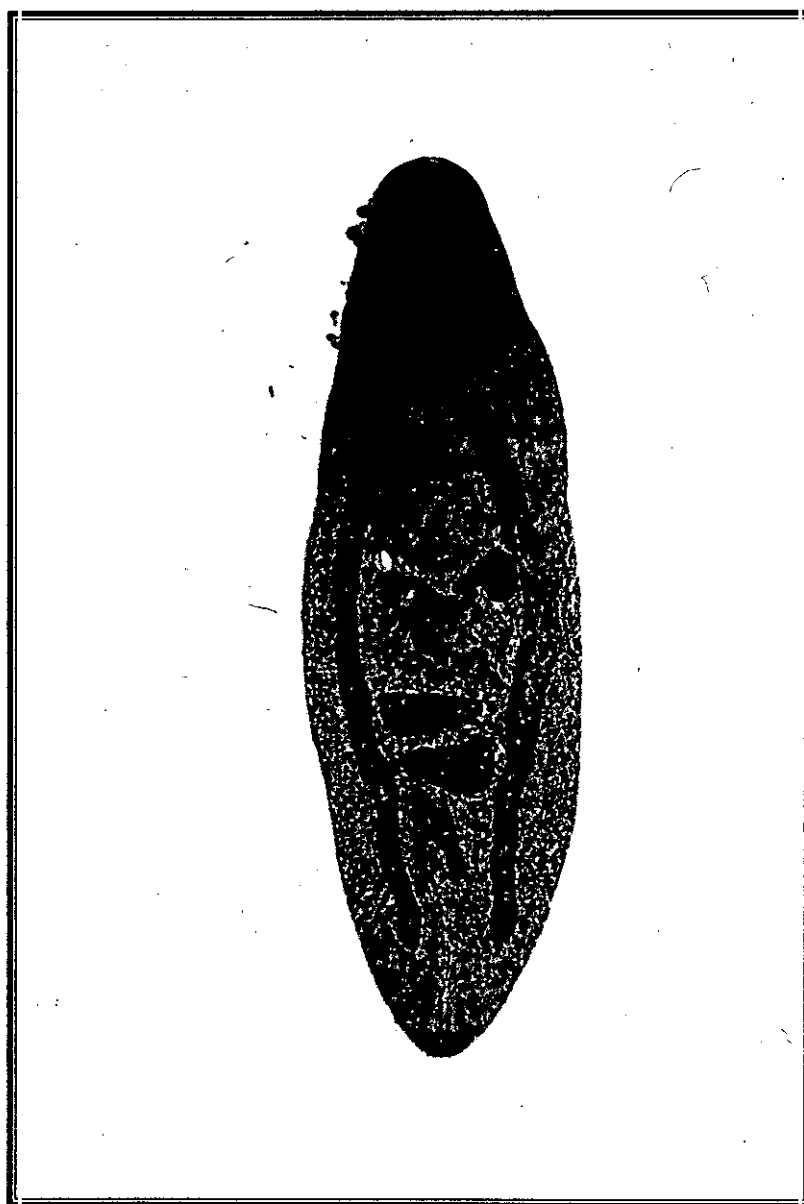


FOTO 61: *Opisthioglyphe endoloba* (225 x).

Tabla 53

<i>O. end.</i> Nº +	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	HEM	MAC	RAN	REN	OTO	VER	PRI	NIH	RÍO	LAG	ALB	MAR	S.TO	
Nº +	4	2	0	0	5	1	0	4	1	1	0	0	0	6
I. M.	2,0	4,0	0,0	0,0	1,8	7,0	0,0	2,0	7,0	1,0	0,0	0,0	0,0	2,7
P. (%)	2,3	0,9	0,0	0,0	4,2	0,5	0,0	6,8	0,7	0,7	0,0	0,0	0,0	1,4

Nº +: Número de ranas positivas a la infestación por este trematodo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (número de trematodos).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Pri: Primavera, Ver: Verano y Oto: Otoño.

Alb: Albornos, Mar: Marlín, Nih: Niharra, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y S.To: Santo Tomé.

Este trematodo sólo aparece en las ranas adultas y en mayor porcentaje en hembras que en machos donde su prevalencia alcanza tan sólo el 0,9% mientras que en las hembras es de 2,3%, siendo su intensidad media la mitad que la de los machos (2,0 y 4,0 respectivamente). Las formas juveniles carecen de ellos y sorprendentemente también los renacuajos, a pesar de que Yamaguti (1975), apuntó la posibilidad de que actuarán como segundo hospedador intermediario.

Con respecto a las estaciones, el otoño es la época con mayor prevalencia, 4,2%; en verano apenas alcanza el 0,5% y en primavera no se ha encontrado. Sin embargo, la intensidad media es mucho mayor en verano que en otoño (7,0 y 1,8 respectivamente).

Con relación a las distintas zonas estudiadas, Niharra es la localidad que presenta un porcentaje de infestación más alto aunque ni siquiera alcanza el 7%. Considerablemente distante se encuentra S. Pedro que no supera el 0,7%, aunque S. Pedro (río) presenta una intensidad media de 7,0, valor mucho mayor que el de Niharra con sólo 2,0. En Albornos, Marlín y S. Tomé no se ha detectado.

El nombre de esta especie es muy controvertido:

- Según Dawes (1968) y Yamaguti (1979) la especie es *Opisthioglyphe ranae* con *Opisthioglyphe endoloba* (Dujardin, 1845) Looss, 1899, como sinónimo.
- Lluch y Roca y Navarro (1986) señalan que existe una gran controversia, todavía hoy no resuelta, entre los helmintólogos que piensan en la existencia de dos especies europeas, *O. ranae* y *O. endoloba*, y aquellos que tienden a creer en la equivalencia de ambas formas (Combes y Gerbeaux, 1967 y Grabda-Kazubaska, 1967).

De seguir la opinión de los más significados especialistas en este campo (Grabda-Kazubaska, Combes, Cordero del Campillo, Lluch, Roca y Navarro) corresponde a la forma ibérica la denominación de *O. endoloba*.

Es una especie abundante en Europa y en la Península Ibérica, incluida Ávila (Sierra de Gredos), citado por Combes y Knoepffler (1965) en *B. bufo gredosicola* y *R. iberica* y Navarro y col. (1987) en *R. iberica*. Nosotros la hemos encontrado en *Rana perezi* de la zona llana de Ávila.

4.3.3. OTROS TREMATODOS ENCONTRADOS EN ANFIBIOS IBÉRICOS

- *Brachycoelium salamandrae* Frölich, 1789, en *Salamandra salamandra* y *Rana temporaria* de Barcelona y Madrid.
- *Brachylaima* sp. (metacercarias), en *R. perezi* de Levante.
- *Crepidostomum farionis* (Müller, 1780) Lühe, 1909, en *Bufo bufo* de Ávila.
- *Diplodiscus subclavatus* Goeze, 1782, en *Rana perezi* de Castellón, Granada y Valencia.
- *Euryhalmis squamula* (Rudolphi, 1819) Poche, 1926, en *R. temporaria* de Gerona.
- *Gorgoderia cygnoides* Zeder, 1800, en *R. perezi* de Coimbra.
- *Gorgoderia euzeti* Lees et Combes, 1968, en *R. perezi* y *R. temporaria* de Alicante, Cáceres, Gerona, Huesca y Salamanca.
- *Gorgoderia microovata* Fuhrmann, 1925, en *B. bufo* y *R. perezi* de Avila y Soria.
- *Haematoloechus carbonelli* Lluh, Navarro y Pérez-Soler, 1991, en *B. bufo*, *R. iberica* y *S. salamandra* de Avila y Cáceres.
- *Haematoloechus pyrenaicus* Combes, 1965, en *R. temporaria* de Cantabria, Lérida, Lugo y Salamanca.
- *Haematoloechus similis* Looss, 1902, en *R. perezi* de Gerona, Granada y Soria.
- *Halipegus kessleri* (Grebritzky, 1872) Vlasenko, 1929, en *R. perezi* de Alicante, Cáceres y Valencia.
- *Halipegus ovocaudatus* Vulpian, 1859, en *R. perezi* de Soria.
- *Haplometra cylindracea* (Zeder, 1800) Looss, 1899, en *B. bufo*, *R. perezi* y *R. temporaria* de Granada y Huesca.
- *Leptophallus nigrovenosus* (Bellingham, 1844) Lühe, 1909, en *Alytes cisternasii*, *Hyla arborea*, *Natrix maura* y *R. perezi* de Alicante, Ávila, Castellón, Granada, Pirineos y Valencia.
- *Massaliatrema gyrincola* Dollfus et Timon-David, 1960, en *R. perezi* de Alicante, Castellón y Valencia.
- *Opisthioglyphe rastellus* (Olsson, 1876) Looss, 1907, en *R. perezi* y *R. temporaria* de Lérida.
- *Opisthodiscus diplodiscoides* Cohn, 1929, en *R. ibérica* de Avila.
- *Paralepoderma brumpti* Büttner, 1950, en *R. perezi* de Valencia.
- *Pleurogenes claviger* (Olfers, 1816) Looss, 1899, en *R. perezi* de Alicante, Castellón y Valencia y *Gallotia simonyi stehlini* de Canarias.
- *Pleurogenes hepaticola* Grabda-Kazubska, 1972, en *R. perezi* de Valencia.
- *Pleurogenoides medians* (Olsson, 1876) Travassos, 1930, en *B. bufo* y *R. perezi* de Alicante, Ávila, Castellón, Granada, y Coimbra.
- *Pleurogenoides punicus* Balozet et Callot, 1938, en *R. perezi* de Valencia.
- *Pleurogenoides stromi* Travassos, 1930, en *R. perezi* de Alicante, Castellón, Gerona, Granada y Valencia.
- *Prosotocus fueleborni* Travassos, 1930, en *R. perezi* de Alicante, Castellón y Valencia.
- *Prosotocus sigalaris* Bailenger et Chanseau, 1954, en *R. perezi* de Valencia.
- *Ratzia parva* (Stossich, 1904) Poche, 1926, en *Natrix maura* y *R. perezi* de Alicante, Castellón, Salamanca y Valencia.

- *Skrjabinoeces similis* (Looss, 1899) Odening, 1958, en *R. perezi* de Alicante, Castellón, Gerona, Granada, Soria y Valencia.
- *Sonsinotrema calloti* Callot, 1936, en *R. perezi* de Alicante, Castellón y Valencia.
- *Sonsinotrema tacapense* (Sonsino, 1894) Balozet et Callot, 1938, en *Podarcis hispanica*, *R. perezi* y *Tarentola mauritanica* de Alicante, Castellón y Valencia.
- *Szidatia joyeuxi* (Hughes, 1929) Dubois, 1938, en *Natrix maura* y *R. perezi* de Alicante, Castellón, Granada y Valencia.
- *Tetracotyle* sp., en *R. perezi* de Valencia.

Desde el punto de vista estrictamente corológico, cabe señalar que, de forma similar a lo apreciado en *R. temporaria* de los Pirineos Centrales y Orientales y *R. ibérica* del Oeste del Sistema Central, no puede detectarse influencia helmíntica alguna de origen norteafricano (*Sonsinotrema*, *Ratzia* o *Szidatia*, géneros que presentan este presumible origen) lo que contrasta patentemente con *R. perezi* del Levante Ibérico (Lluch, 1985 y Navarro, 1987).

4.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE NEMATODOS

4.4.1. GENERALIDADES

De las 432 ranas estudiadas, 298 resultaron estar parasitadas por nematodos, lo que supone una prevalencia del 69 %. Esta infestación puede ser (en orden decreciente): simple (por una sola especie de nematodo), doble (por dos especies) o triple (por tres) (Tabla 54).

Tabla 54

NEMATODOS	Nº Ranas	%
Sin infestar	134	31,0
Simple	258	59,7
Doble	38	8,8
Triple	2	0,5
Total infestadas	298	69,0

Se han identificado un total de cuatro especies de nematodos de localización:

1. *Cosmocerca ornata* (Dujardin, 1845) Railliet y Henry, 1916, en el intestino grueso.
2. *Rhabdias bufonis* (Schrank, 1788) Stiles y Hassall, 1905, en los pulmones.
3. *Icosiella neglecta* (Diesing, 1851) Seurat, 1917, adultos en el tejido conjuntivo subcutáneo e intermuscular y microfilarias en sangre.
4. *Capillaria costacruzi* Travassos, 1932, en el intestino grueso.

El número total de nematodos encontrados fue de 1.032, con una intensidad media de parasitación de 3,0 nematodos por rana infestada. Las especies más frecuentes por orden decreciente son: *C. ornata*, *R. bufonis*, *C. costacruzi* e *I. neglecta* (adultos) (Tabla 55).

Tabla 55

	<i>C. orn</i>	<i>R. buf</i>	<i>C. cos</i>	<i>I. neg</i>	Nematodos
Nº INDIV.	801	109	82	40	1032
INT. MED.	3,0	4,5	5,9	2,7	3,0

Nº INDIV: Número de individuos de esa especie que han aparecido en las 432 ranas.

INT. MED: Intensidad media de parasitación.

C. orn: *Cosmocerca ornata*, *R. buf*: *Rhabdias bufonis*.

C. cos: *Capillaria costacruzi*, *I. neg*: *Icosiella neglecta*.

En la tabla 56 se muestra la intensidad media y en la tabla 57 y gráfica 6 la prevalencia. Cada tabla incluye el sexo, edad, estación y localidad de las ranas.

Tabla 56

I. M.	<i>C. costacruzi</i>			<i>R. buf</i>	<i>C. ornata</i>			<i>I. neglecta</i>			
	HEM	MAC	ADU	HER	HEM	MAC	ADU	HEM	MAC	ADU	MIC
Sexo/Edad											
R-HEMBRA	4,8	7,3	8,4	3,8	3,2	1,1	2,9	2,7	1,3	2,6	1,7
R-MACHO	2,2	1,3	2,5	5,0	3,2	1,1	3,1	2,1	2,0	2,7	1,6
RANITA	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0
RENACUAJO	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Estación											
PRIMAVERA	0,0	1,0	1,0	6,4	3,9	1,1	3,8	1,5	1,5	2,0	1,5
VERANO	3,8	5,3	6,2	1,6	3,4	1,0	3,3	2,6	1,5	2,9	1,7
OTOÑO	0,0	0,0	0,0	1,3	1,5	1,1	1,7	2,0	0,0	2,0	3,0
Localidad											
ALBORNOS	0,0	0,0	0,0	0,0	1,9	1,0	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0
MARLÍN	1,0	1,0	1,0	1,0	2,9	1,1	3,2	1,8	1,5	2,0	1,5
NIHARRA	0,0	0,0	0,0	1,3	1,5	1,1	1,7	3,5	2,0	4,5	3,0
S.TOME	1,0	0,0	1,0	0,0	2,0	1,0	1,9	3,5	1,0	3,0	1,0
RJO	4,3	5,3	7,2	6,8	3,6	1,0	3,3	1,0	0,0	1,0	1,7
LAGUNA	0,0	0,0	0,0	2,0	3,6	1,1	3,3	1,0	0,0	1,0	1,0
Total											
432 RANAS	3,8	4,7	5,9	4,5	3,2	1,1	3,0	2,4	1,5	2,7	1,7

I.M.: Intensidad Media.

***R. buf*:** *Rhabdias bufonis*.

HEM: Nematodo hembra.

MAC: Nematodo macho.

HER: hermafrodita.

MIC: Microfilaria.

ADU: Adulto (hembras + machos).

Tabla 57

Preval. (%)	<i>C. ornata</i>			<i>I. neglecta</i>					<i>R. buf</i>	<i>C. costacruzi</i>			NEM
	HEM	MAC	ADU	MIC	HEM	MAC	ADU	TOT	HER	HEM	MAC	ADU	
Sexo/Edad													
R. HEMBRA	49,4	35,6	67,8	8,0	3,4	2,3	4,6	9,2	3,4	4,6	2,3	4,6	76,4
R. MACHO	52,0	32,8	64,6	6,1	3,1	0,9	3,1	7,4	7,4	2,2	1,3	2,6	70,7
RANITA	14,3	7,1	14,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	14,3
RENACUAJO	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,7	0,0	0,0	0,0	6,7
Estación													
PRIMAVERA	62,8	23,9	70,8	5,3	1,8	1,8	2,7	6,2	13,3	0,0	0,9	0,9	73,5
VERANO	46,0	30,0	57,5	10,5	5,0	2,0	5,5	13,0	2,5	6,5	3,0	6,5	70,0
OTOÑO	37,0	42,9	61,3	0,8	0,8	0,0	0,8	0,8	3,4	0,0	0,0	0,0	63,0
Localidad													
ALBORNOS	65,2	30,4	73,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	73,9
S. TOMÉ	26,7	33,3	46,7	26,7	13,3	13,3	20,0	40,0	0,0	6,7	0,0	6,7	73,3
MARLÍN	41,5	24,4	46,3	24,4	9,8	4,9	12,2	31,7	4,9	2,4	2,4	4,9	70,7
NIHARRA	37,3	39,0	59,3	6,8	6,8	3,4	6,8	6,8	10,2	0,0	0,0	0,0	69,5
LAGUNA	52,1	36,6	68,3	0,7	0,7	0,0	0,7	1,4	1,4	0,0	0,0	0,0	68,3
RÍO	49,3	27,0	61,2	5,9	1,3	0,0	1,3	5,9	9,2	7,2	3,9	7,2	67,8
Total													
432 RANAS	47,9	31,9	62,0	6,5	3,0	1,4	3,5	7,9	5,6	3,0	1,6	3,2	69,0

Preval: Prevalencia.

R. buf: *Rhabdias bufonis*.

HEM: Nematodo hembra.

MAC: Nematodo macho.

HER: hermafrodita.

MIC: Microfilaria.

ADU: Adulto (hembras + machos).

TOT: Total (adultos + larvas).

NEM: Nematodos.

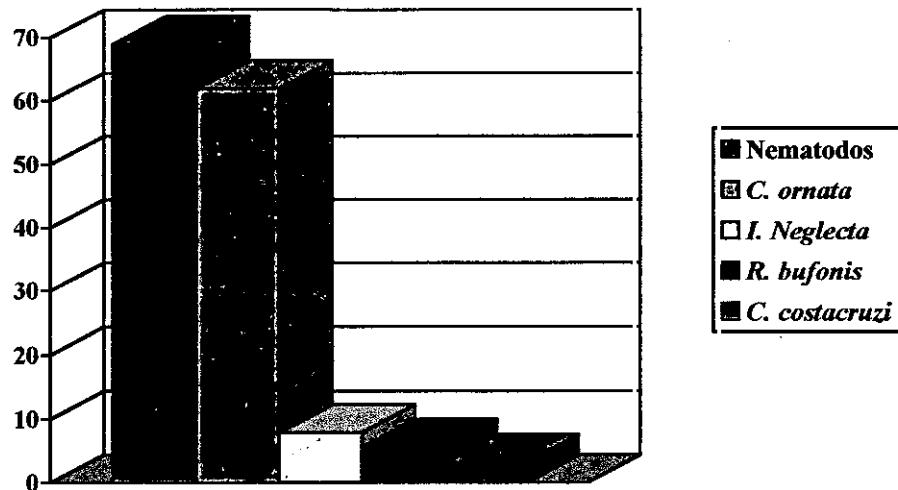
En esta tabla se puede observar que en las ranas, la parasitación por nematodos es en general muy frecuente, con un 69% de prevalencia.

Con relación al sexo y a la edad, las ranas adultas muestran una prevalencia muy similar tanto en hembras como en machos (76,4% y 70,7% respectivamente). Sin embargo las ranas juveniles están muy poco infestadas, con sólo 14,3%, mientras que en los renacuajos la parasitación es muy escasa, 6,7% de prevalencia.

Centrándonos en las distintas estaciones del año, vemos que estos valores son similares, siendo ligeramente superiores en primavera e inferiores en otoño.

En cuanto a las localidades todas presentan una prevalencia semejante, con un valor máximo en Albornos del 73,9% y uno mínimo en S. Pedro (río) con 67,8%.

Esto significa que los nematodos están muy distribuidos por Ávila, sin ser un factor determinante la zona y la estación del año.

Gráfica 6: Prevalencia de Nematodos.

4.4.2. DESCRIPCIÓN DE LOS NEMATODOS ENCONTRADOS

4.4.2.1. *Cosmocerca ornata* (Dujardin, 1845) Railliet y Henry, 1916

Se localiza en el intestino grueso (ampolla rectal). Su cuerpo es fusiforme con un acentuado dimorfismo sexual y una cutícula estriada transversalmente. Posee dos alas relativamente anchas y papilas en toda la longitud del cuerpo. La boca tiene tres labios pequeños y seis papilas. El esófago consta de una pared anterior cilíndrica, una faringe muy corta y un bulbo piriforme, cuya parte anterior aparece, a veces, prolongada. El intestino recto se ensancha en el extremo anterior.

MACHO

Es mucho más pequeño que la hembra. El extremo posterior es curvado, en forma de anzuelo, con numerosas papilas y dos filas de placas precloacales (formaciones quitinizadas). El poro excretor está situado cerca del extremo cefálico, ligeramente por delante del bulbo esofágico. La parte anterior del esófago es relativamente más larga que en la hembra. La cloaca está situada cerca del extremo posterior. Detrás de la cloaca el cuerpo es cónico y termina en una punta fina pequeña.

Hay numerosas papilas pequeñas en la cara ventral que son difíciles de distinguir. Aproximadamente, catorce pares de estas papilas están situadas lateral o subventralmente. Dos pares de papilas subventrales grandes están situadas por detrás de la cloaca con el borde semejante a una roseta. La cloaca está rodeada por seis pares de papilas pequeñas. Por delante de la cloaca hay dos filas de placas con una papila en el centro y dos filas de papilas dispuestas a lo largo de las filas de placas. Hay cinco pares de placas que constan de una papila central y un anillo quitinizado, abierto en la parte

anterior y con una superficie rugosa (plectanas). La parte posterior y lateral de estos anillos anteriores es un semicírculo de 6-7 formaciones quitinizadas y 2 procesos quitinizados con extremos irregulares, los cuales forman un ángulo obtuso (visto lateralmente).

Presenta alas laterales anchas que ocupan las tres cuartas partes del cuerpo. Sin embargo, carece de alas caudales. Las espículas son rudimentarias. El gubernáculo es triangular (visto anteriormente), con la cubierta fuertemente quitinizada y formando una "V" con una larga punta. El conducto eyaculador es simple. En la parte posterior del cuerpo, en la región de las plectanas, hay músculos fuertes y oblicuos (Láminas I y II y Foto 62).

HEMBRA

Es aproximadamente tres veces más grande que el macho. El poro excretor está situado cerca del bulbo esofágico y la vulva, por delante de la mitad del cuerpo. El ovoyector es simple y dirigido, primero anteriormente, luego gira, se extiende posteriormente, forma un vestíbulo y se continúa con el útero simple que se divide en dos ramas: ascendente y descendente. Son prodélficas. La parte posterior del cuerpo disminuye abruptamente y en el extremo hay una cola larga y fina. Las alas laterales terminan en la base de la parte fina de la cola. En mitad de la cola hay dos convexidades papiliformes o parecidas a una espina, muy pequeñas, las cuales parecen ser aberturas de glándulas caudales. El ano está situado cerca del extremo de la cola. Son vivíparas (Láminas III y IV y Foto 63).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en las tablas siguientes.

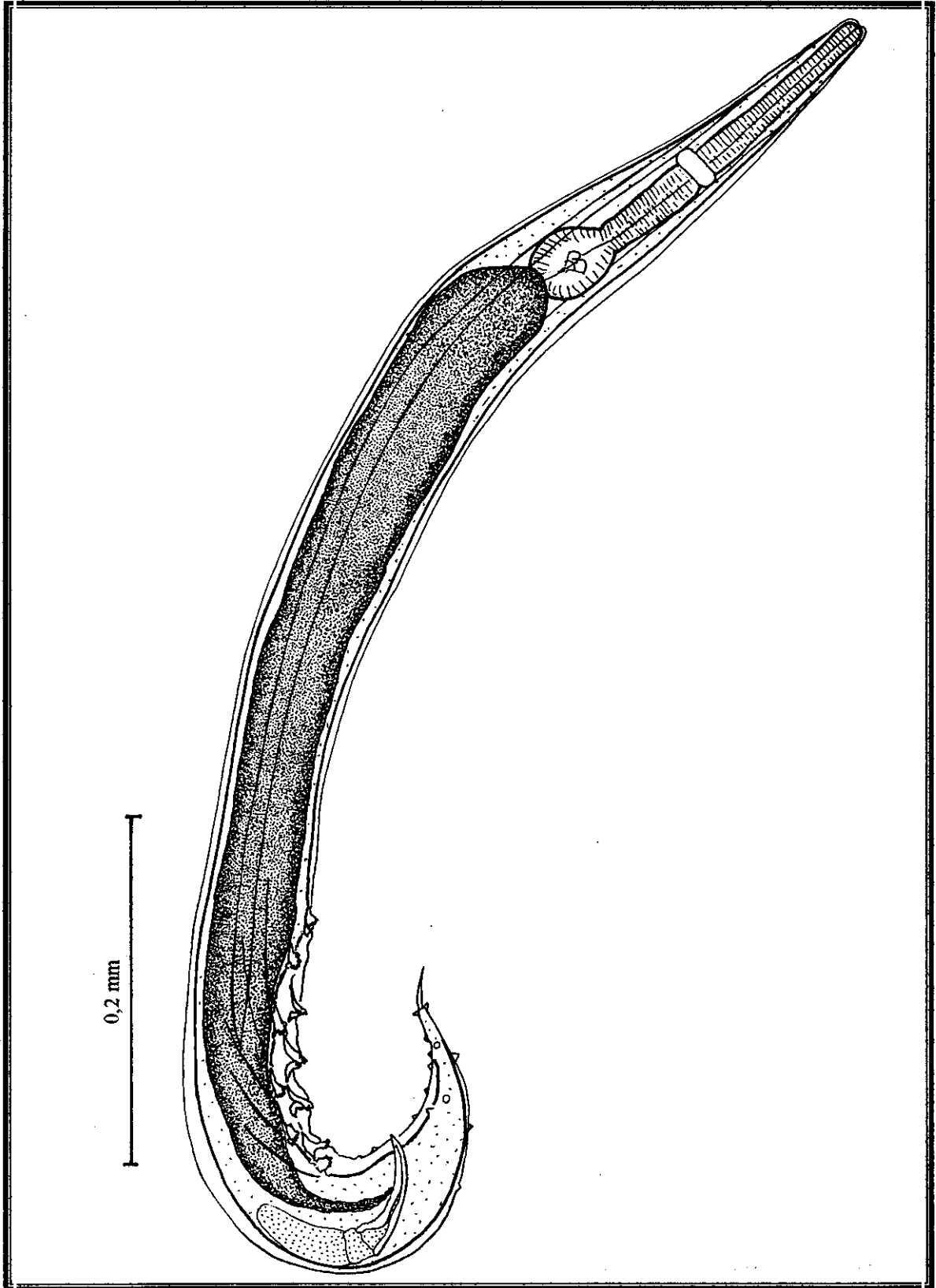
<i>C. ornata</i> (Macho)	Media (μ m)	Desvia- ción \pm
Longitud total	1682	408
Anchura a nivel bulbo	89	23
Long. Esófago + bulbo	287	38
Anchura bulbo	55	14
Anchura esófago	55	14
Dist. ext. cefálico-poro	248	32
Long. apéndice caudal	24	7
Longitud gubernáculo	161	27

<i>C. ornata</i> (Hembra)	Media (μ m)	Desvia- ción \pm
Longitud total	5462	1566
Anchura a nivel bulbo	207	37
Long. Esófago + bulbo	491	28
Anchura bulbo	126	13
Anchura esófago	50	6
Dist. ext. cefálico-poro	412	44
Long. apéndice caudal	475	63
Dist. ext cefálico-vulva	2438	744

Medidos 10 ejemplares

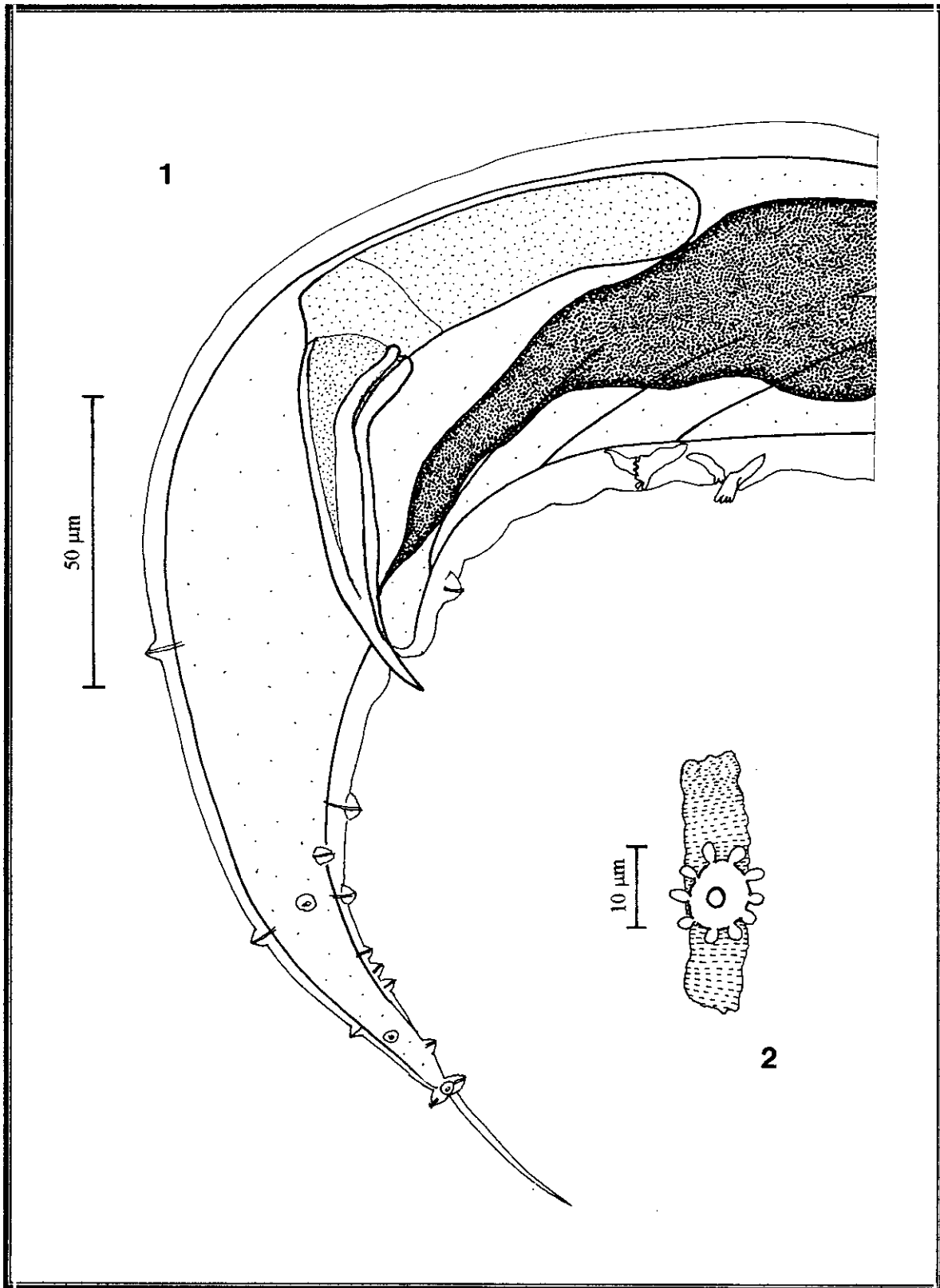
Se han encontrado un total de 801 ejemplares adultos (655 hembras y 146 machos), con una prevalencia del 62,0 % y una intensidad media de parasitación de 3,0 adultos (3,2 hembras y 1,1 machos), por lo que se deduce que este nematodo es muy frecuente en la rana común de Ávila, a pesar de su baja intensidad (Tabla 58).

LÁMINA I



Cosmocerca ornata. Macho.

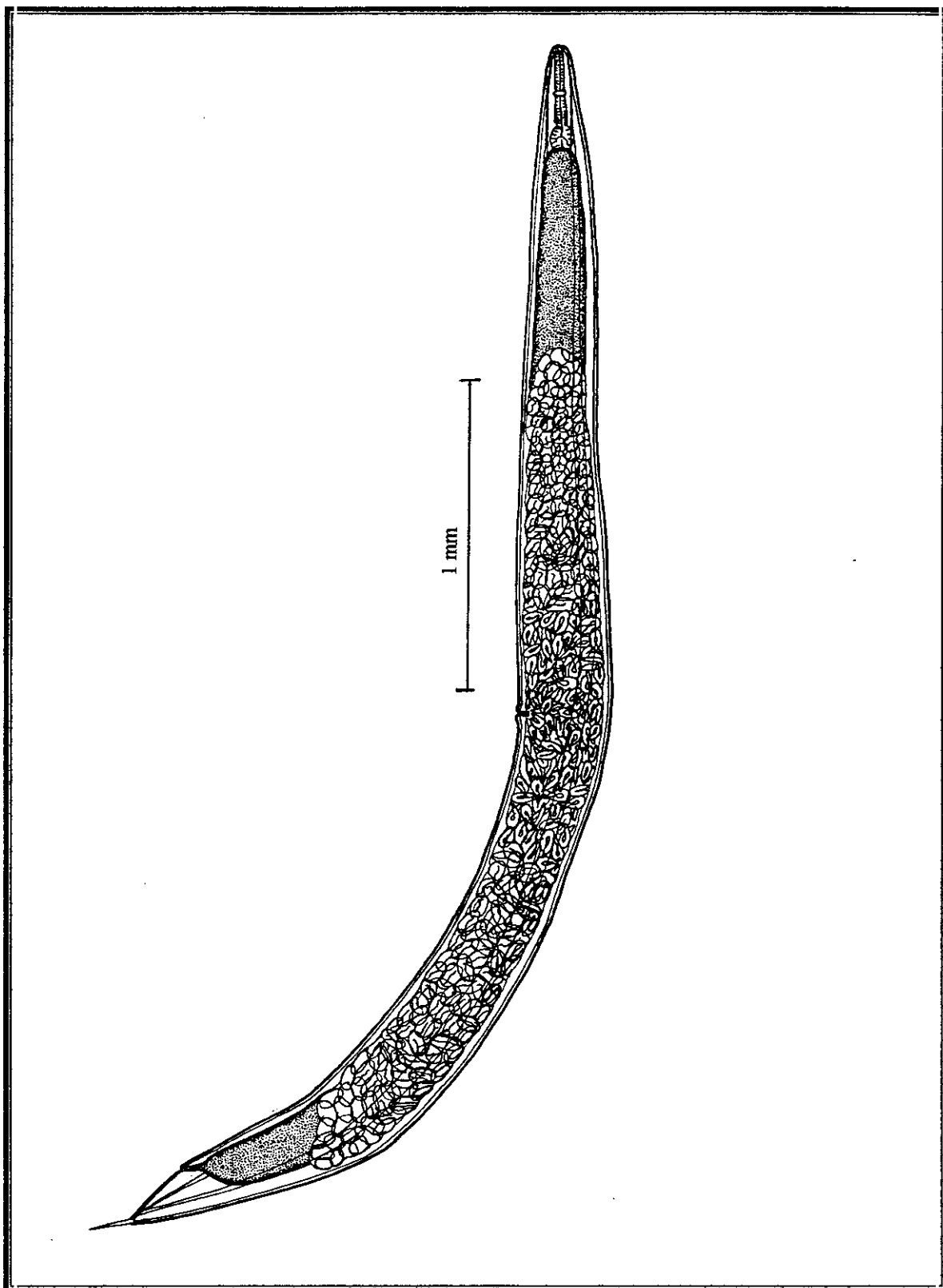
LÁMINA II



Cosmocerca ornata. Macho.

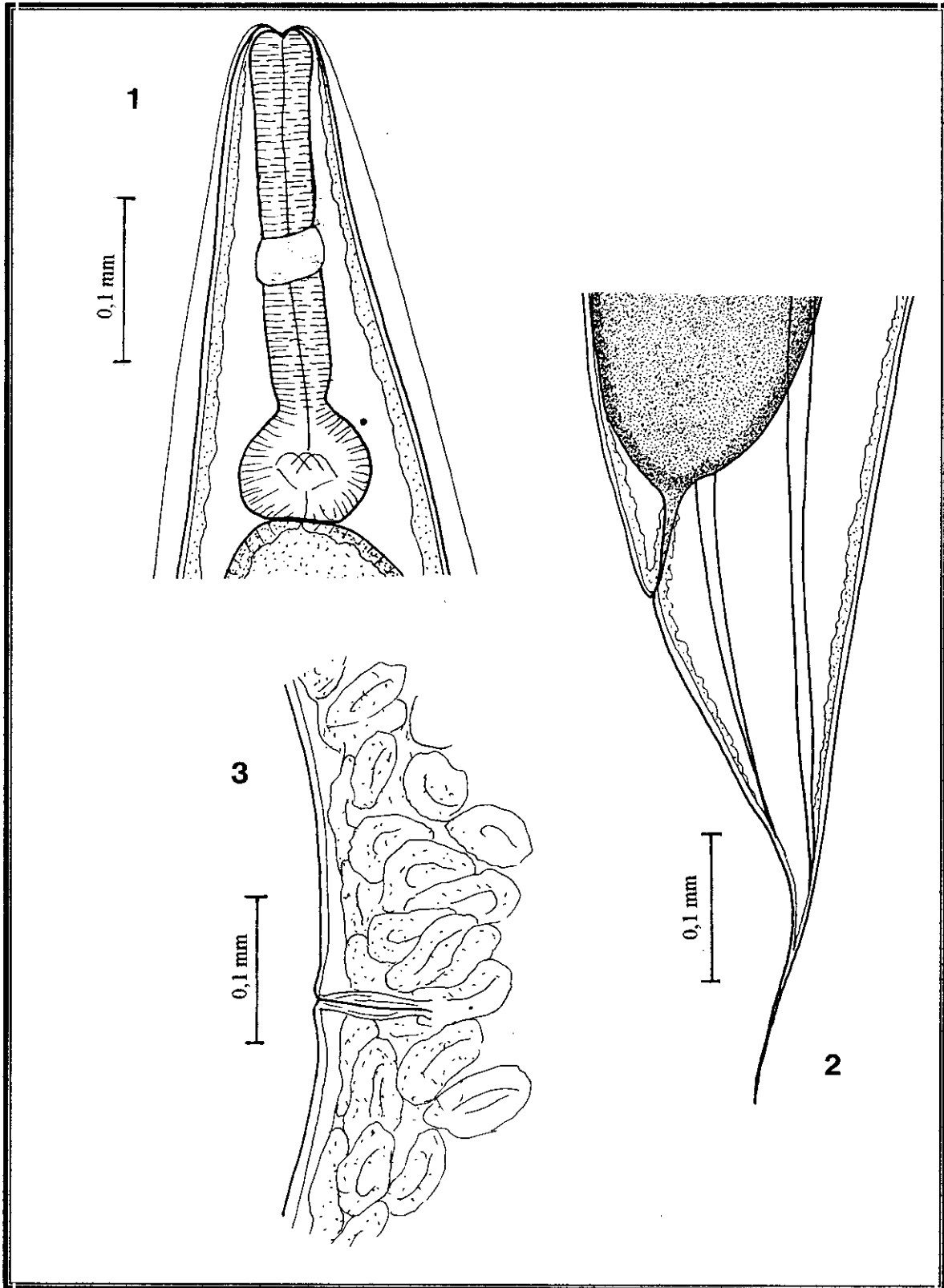
1: Extremo posterior. 2: Plectana.

LÁMINA III



Cosmocerca ornata. Hembra.

LÁMINA IV



Cosmocerca ornata. Hembra.

1: Extremo anterior. 2: Extremo posterior. 3: Vulva.

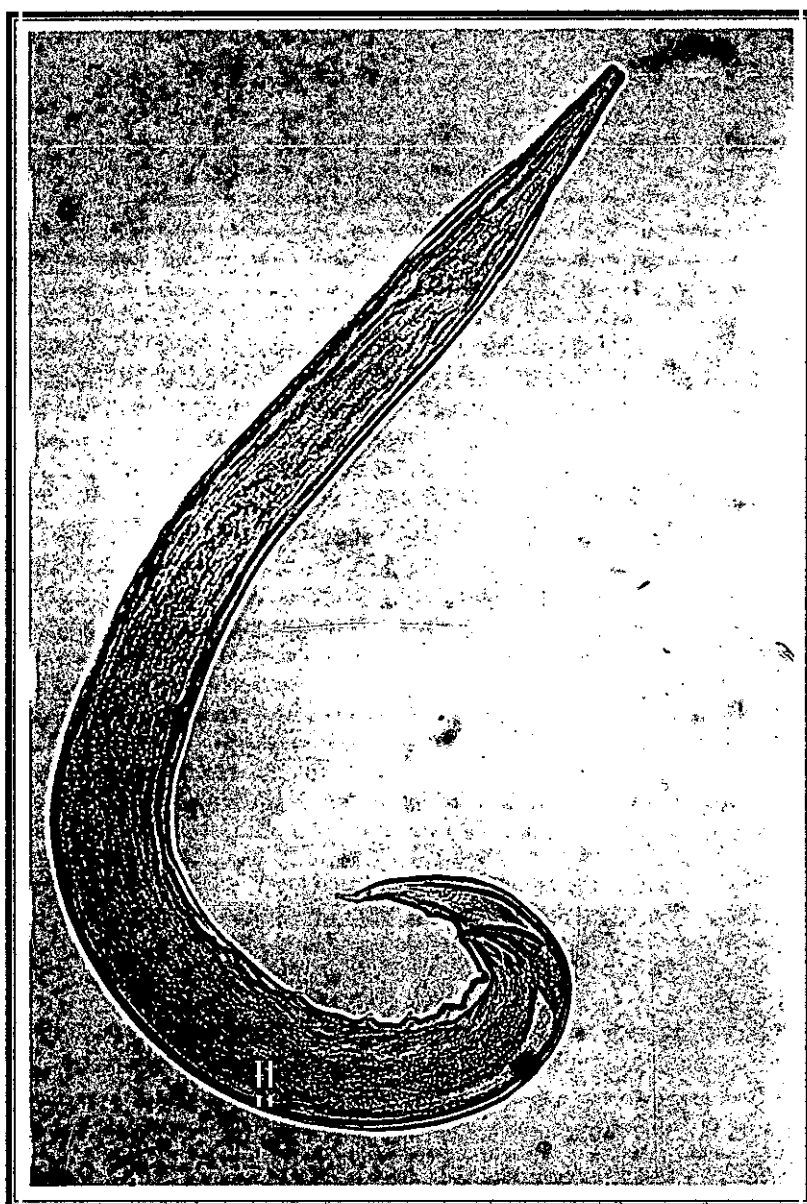


FOTO 62: *Cosmocerca ornata* (315 x). Macho.

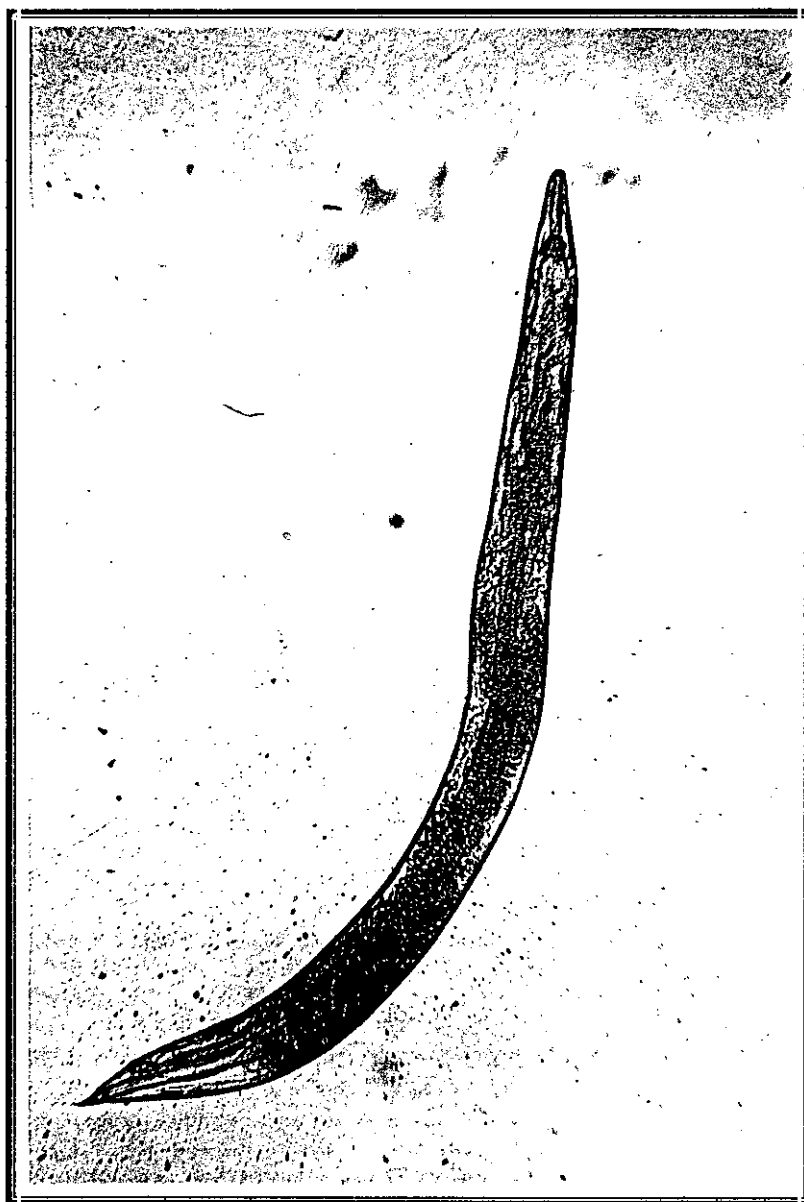


FOTO 63: *Cosmocerca ornata* (38 x). Hembra.

Tabla 58

<i>C. orn</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	HEM	MAC	RAN	REN	PRI	OTO	VER	ALB	RÍO	LAG	NIH	S.TO	MAR	
Hembras														
Nº +	86	119	2	0	71	44	92	15	74	75	22	4	17	207
I. M.	3,2	3,2	1,0	0,0	3,9	1,5	3,4	1,9	3,6	3,6	1,5	2,0	2,9	3,2
P. (%)	49,4	52,0	14,3	0,0	62,8	37,0	46,0	65,2	52,1	49,3	37,3	26,7	41,5	47,9
Machos														
Nº +	62	75	1	0	27	51	60	7	52	41	23	5	10	138
I. M.	1,1	1,1	1,0	0,0	1,1	1,1	1,0	1,0	1,1	1,0	1,1	1,0	1,1	1,0
P. (%)	35,6	32,8	7,1	0,0	23,9	42,9	30,0	30,4	36,6	27,0	39,0	33,3	24,4	31,9
Adultos														
Nº +	118	148	2	0	80	73	115	17	97	93	35	7	19	268
I. M.	2,9	3,1	1,5	0,0	3,8	1,7	3,3	2,1	3,3	3,3	1,7	1,9	3,2	3,0
P. (%)	67,8	64,6	14,3	0,0	70,8	61,3	57,5	73,9	68,3	61,2	59,3	46,7	46,3	62,0

N° +: Número de ranas positivas a la infestación por este nematodo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (número de nematodos).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Adulto: hembras + machos (*C. ornata*).

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Oto: Otoño, Ver: Verano y Pri: Primavera.

Nih: Niharra, S.To: Santo Tomé, Alb: Albornos, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y Mar: Marín.

Lo primero que se refleja en la tabla es que las hembras de *C. ornata* son más abundantes que los machos: el índice de parasitación de las hembras es de 47,9% y su intensidad media, 3,2 hembras por rana, mientras que la prevalencia de los machos es de 31,9% y su intensidad de 1,0 machos por rana.

Por otra parte, podemos ver que las ranas adultas están mucho más parasitadas que las jóvenes, con una diferencia del 50%, siendo la prevalencia ligeramente superior en las ranas hembras que en las ranas machos (67,8% y 64,6% respectivamente). En los renacuajos no hemos encontrado ningún ejemplar de *C. ornata*.

Con relación a las distintas estaciones del año, los niveles de infestación no varían mucho, aunque el índice más alto se da en primavera (70,8%) y el más bajo en verano (57,5%).

Centrándonos en las localidades donde se han extraído las muestras, podemos observar que la prevalencia se encuentra entre un 73,9% en Albornos y un 46,3% en Marín.

Moravec (1990) considera dos subespecies dentro de la especie *C. ornata*, debido a sus diferencias morfológicas:

- *C. ornata ornata* Dujardin, 1845: en ranas y sapos de las zonas templadas de Europa.

- *C. ornata japonica* Yamaguti, 1938: en regiones tropicales y subtropicales de Asia y África.

Observaron que los nematodos africanos y asiáticos eran sustancialmente más pequeños que los europeos (longitud del cuerpo de la hembra grávida, 2,2-5,6 mm, mientras que las europeas miden 4,4-10,3mm). No obstante, las medidas de nuestros ejemplares alcanzaron 3,9-7,0 mm que son unos valores intermedios entre las dos subespecies. Es posible que nos encontremos ante una subespecie intermedia de las dos anteriores, debido a la situación geográfica de España (entre Europa y África); por ello, nosotros no la incluimos dentro de ninguna de las variedades anteriores.

C. ornata se ha revelado, como el nematodo más abundante y más ampliamente repartido de entre los detectados, lo cual viene a coincidir con datos previos procedentes de distintos autores de cuyo conjunto se desprende que es ésta una especie vermiciana común en un elevado número de hospedadores anfibios cuya corología afecta a Europa, África, Asia y América hasta el punto de ser considerada como una especie trivial por algunos helmintólogos (Chabaud y Campana-Rouget, 1955, Navarro y col., 1988).

En la Península Ibérica e Islas Canarias hay numerosas citas de esta especie en *R. perezii* y otros anfibios. Su presencia en Ávila (Sierra de Gredos) ha sido señalada con anterioridad por Navarro y col. (1988) en *R. perezii*. Nosotros la hemos encontrado en la zona llana de la provincia, en el mismo hospedador.

4.4.2.2. *Rhabdias bufonis* (Schränk, 1788) Stiles y Hassall, 1905

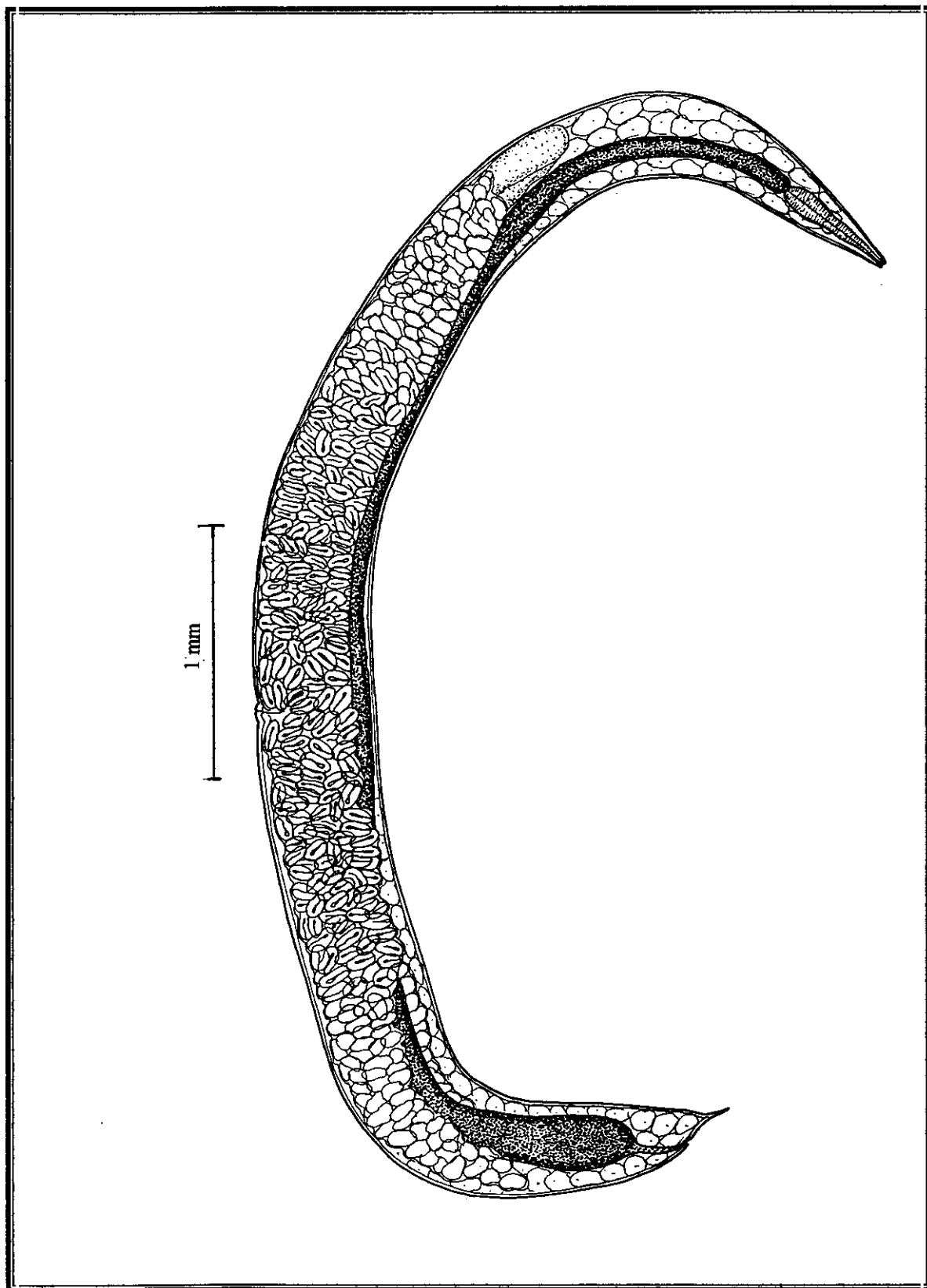
En su ciclo de vida alternan las formas parásitas con las de vida libre.

FORMA PARÁSITA

Se localiza en los pulmones. Tiene un tamaño medio y está cubierta por una cutícula muy arrugada en la superficie. La boca está provista de seis pequeñas papilas bucales, una cápsula bucal circular diminuta, sin labios visibles y un vestíbulo muy pequeño, en forma de tonel, con paredes finas y refringentes. El esófago es muscular siendo algo expandido en su terminación posterior. El anillo nervioso se encuentra cerca de la extremidad anterior. Los ovarios son anfidelfos. La vulva se sitúa cerca o ligeramente enfrente de la mitad del cuerpo. La vagina contiene un gran número de huevos con cáscara muy fina deformable por los movimientos de la larva; son ovovivíparas. El intestino es corto y recto. El ano se encuentra próximo al extremo caudal. La cola es cónica y termina en una punta afilada (Láminas V y VI y Foto 64).

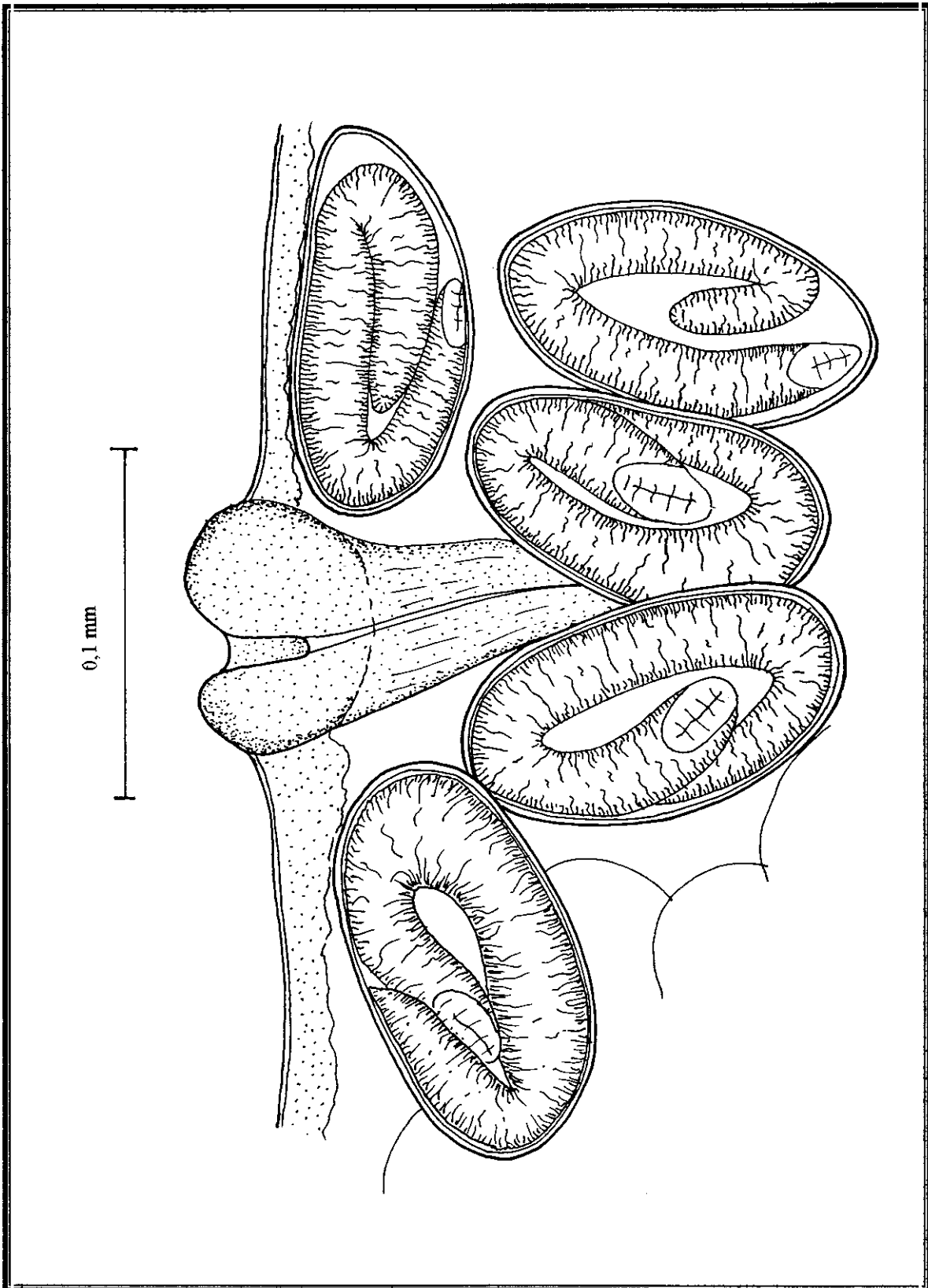
Algunos caracoles pueden servir de hospedador intermediario o paraténico de *R. bufonis* (Fülleborn, 1928; Baker, 1979; Cheng, 1976).

LÁMINA V



Rhabdias bufonis. Adulto.

LÁMINA VI



Rhabdias bufonis. Adulto (Vulva).

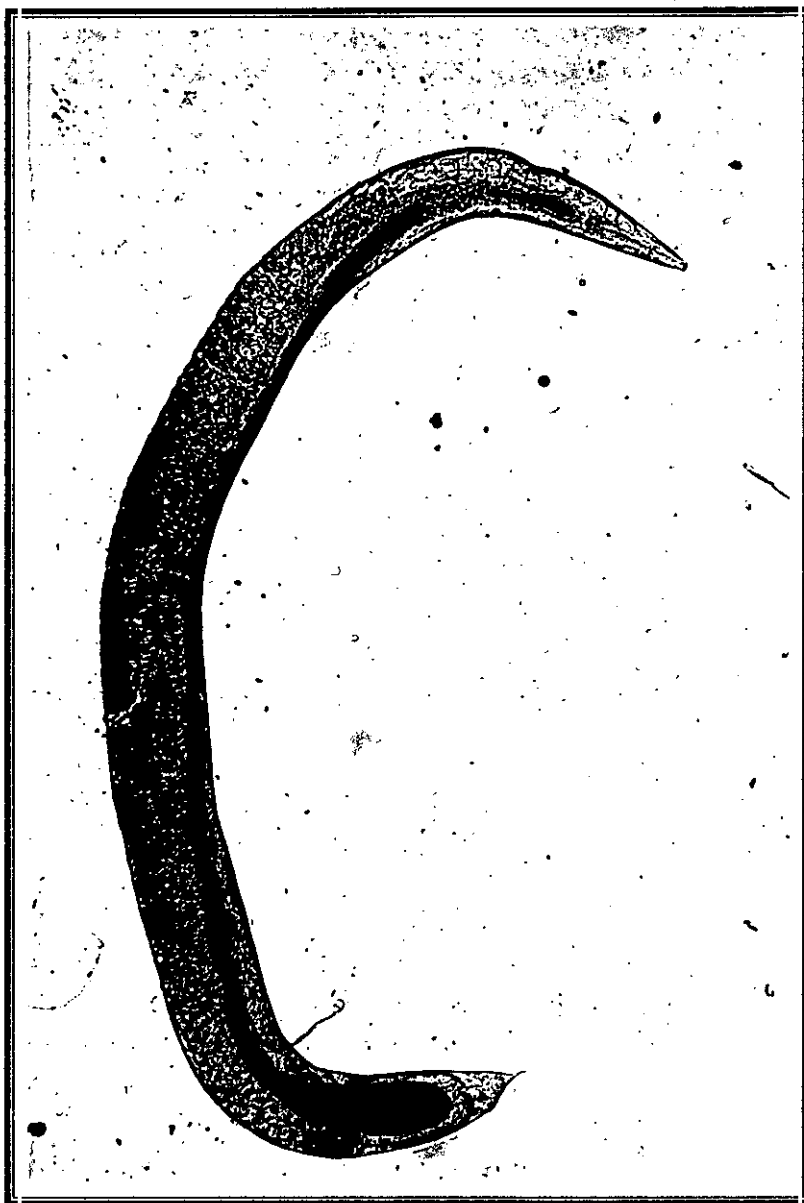


FOTO 64: *Rhabdias bufonis* (45 x). Adulto.

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en la tabla siguiente.

<i>R. bufonis</i>	Media (µm)	Desviación ±
Longitud total	6746	773
Anchura máxima	403	46
Longitud esófago	427	38
Anchura esófago	73	9
Dist. ext cefálico-vulva	3779	439
Long. apéndice caudal	275	59
Longitud huevos	104	6
Anchura huevos	53	3

Medidos 10 ejemplares

Hemos encontrado un total de 109 ejemplares de la forma parásita de *R. bufonis* distribuidos en el 5,6% de las ranas, con una intensidad media de parasitación de 4,5 individuos por rana, por lo que se deduce que este trematodo es muy poco frecuente en la rana común de Ávila (Tabla 59).

Tabla 59

<i>R. buf</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	MAC	REN	HEM	RAN	PRI	OTO	VER	NIH	RÍO	LAG	MAR	ALB	S.TO	
Nº +	17	1	6	0	15	4	5	6	14	2	2	0	0	24
I.M.	5,0	1,0	3,8	0,0	6,4	1,3	1,6	1,3	6,8	1,0	2,0	0,0	0,0	4,5
P. (%)	7,4	6,7	3,4	0,0	13,3	3,4	2,5	10,2	9,2	4,9	1,4	0,0	0,0	5,6

Nº +: Número de ranas positivas a la infestación por este nematodo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (número de nematodos).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Adulto: hembras + machos (*C. ornata*).

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Oto: Otoño, Ver: Verano y Pri: Primavera.

Nih: Niharra, S.To: Santo Tomé, Alb: Albornos, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y Mar: Marín.

Se puede observar que el índice de parasitación en las ranas machos es del 7,4%, con una intensidad media de 5,0 ejemplares por macho, mientras que el de las ranas hembras es de casi la mitad, 3,4% con una intensidad media también menor ya que tan sólo se acerca a 3,8 ejemplares por hembra. En las ranitas no se han encontrado *R. bufonis* y en los renacuajos ha aparecido un ejemplar aunque según Anderson (1992) no había aparecido en renacuajos de vida libre, hasta ese momento, debido a una base ecológica.

Al igual que en otros estudios epizootiológicos de especies de *Rhabdias*, donde la más baja prevalencia e intensidad de *Rhabdias* spp. de varios anfibios de Inglaterra se observó en verano (Less, 1962), en Ávila la prevalencia más baja también se da en

verano, con un porcentaje de parasitación del 2,5%, aunque la intensidad más baja se da en otoño con 1,3 ejemplares por rana. En primavera es donde se ha encontrado el mayor índice de parasitación y la mayor intensidad media, con un 13,3% y 6,4 respectivamente, datos que también coinciden con estudios de dos especies de *Rhabdias* en Canadá (Baker, 1979).

Entre las distintas localidades también observamos que la mayor infestación se da en Niharra con un 10,2% y en S. Pedro (río) con un 9,2%, mientras que en S. Pedro (laguna) y Marlín, la parasitación es muy pequeña, 4,9% y 1,4% respectivamente. En el resto de las zonas su prevalencia es nula.

Esta especie está ampliamente distribuida por toda la totalidad del Viejo Mundo y ha sido muchas veces citada en la Península Ibérica en *R. perezi* y otros anfibios. También se ha citado en *R. iberica* de Ávila (Sierra de Gredos) por Navarro y col. (1987). Nosotros la hemos encontrado en *Rana perezi* de la zona llana de Ávila.

4.4.2.3. *Icosiella neglecta* (Diesing, 1851) Seurat, 1917

Se localiza en el tejido conjuntivo subcutáneo e intermuscular. Su cuerpo es filiforme, ligeramente más fino al final. La cutícula es lisa, transparente, no estriada y poco resistente. El esófago se encuentra dividido en parte muscular y glandular y es largo: en el macho ocupa más de la mitad del cuerpo y en la hembra, un cuarto de la longitud del cuerpo. El anillo nervioso está situado en la parte posterior del esófago muscular. El intestino es estrecho, recto y oscuro. La cola es corta.

MACHO

Es mucho más pequeño que la hembra. La cloaca tiene dos labios bien desarrollados, situados cerca de la terminación posterior del cuerpo que es redondeada. Las espículas son diferentes: la izquierda es larga y fina, con estriaciones transversales sinuosas y la derecha es más pequeña y ancha Láminas VII y VIII y Foto 65).

HEMBRA

Su longitud es tres veces mayor que la del macho y su anchura el doble. La vulva se encuentra muy próxima al extremo cefálico. La cola es corta, redondeada. La vagina se dirige posteriormente y tiene una parte muscular de alrededor de 1 mm de longitud, ensanchándose en un reservorio oval lleno de larvas. Las ramas uterinas son paralelas. La vesícula seminal es ovoide y está situada en la parte posterior del cuerpo. Los huevos tienen una cubierta fina y contienen larvas (Láminas IX y X y Foto 66). La larva desarrollada (microfilaria) posee una vaina (Foto 67).

Según Desportes (1941, 1942) el hospedador intermediario de *I. neglecta* en Francia es *Forcipomyia velox* (Chironomido, Ceratopogoninae) y *Sycorax silacea* (mosquitos). Porta (1912) diseccionó dos ejemplares de *Hirudo officinalis*, encontró dos larvas de microfilarias en cada uno y concluyó que *H. officinalis* puede ser el hospedador intermediario de *I. Neglecta*. Desportes no estuvo de acuerdo con él porque comprobó que *I. neglecta* moría rápidamente en el vector *Helobdella algura*,

Hemiclepsis marginata, *Haemopsis sanquisuga* y *Hirudo officinalis*. Skrjabin (1968) está conforme con Desportes en que puede tener lugar un desarrollo larvario parcial de esta filaria en el invertebrado, pero no un estado infestante, que se da en el hospedador normal.

Nosotros, sin embargo, hemos encontrado muchas microfilarias en muestras realizadas de sanguijuelas, *Batrachobdella algira*, que estaban sobre nuestras ranas, aunque no podemos saber si es un desarrollo parcial de la microfilaria o es un estado infestante, pero por la gran cantidad de ellas encontradas y su mayor tamaño en la sanguijuela, nos inclinamos a suponer, que se trate del estado infestante y que éste sea el hospedador intermediario de *I. neglecta* en *R. perezi* de Ávila (Foto 68).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en las tablas siguientes.

<i>I. neglecta</i> (Macho)	Media (μ m)	Desvia- ción \pm
Longitud total	10506	1155
Anchura máxima	272	26
Longitud esófago	3567	529
Diám. medio esófago	202	15
Long. apéndice caudal	38	13
Longitud espícula 1	322	23
Longitud espícula 2	109	11

<i>I. neglecta</i> (Hembra)	Media (μ m)	Desvia- ción \pm
Longitud total	31766	4777
Anchura máxima	529	37
Longitud esófago	5490	621
Diám. medio esófago	334	63
Long. apéndice caudal	976	175
Dist. ext cefálico-vulva	186	167
Longitud huevos	27	11
Anchura huevos	18	7

Microfilaria (en sanguijuela)	Media (μ m)	Desvia- ción \pm
Longitud total	84	8
Anchura máxima	7	1
Longitud de la vaina	92	6

Microfilaria (en rana)	Media (μ m)	Desvia- ción \pm
Longitud total	70	13
Anchura máxima	7	1
Longitud de la vaina	95	15

Medidos 10 ejemplares

En el análisis de *I. neglecta* tenemos que considerar por una parte a los adultos (hembras y machos) que se encuentran en el tejido conjuntivo y muscular de las ranas y por otro lado a las microfilarias de la sangre. Entre los adultos hemos encontrado un total de 40 ejemplares (31 hembras y 9 machos), lo que supone una prevalencia del 3,5% y una intensidad media de parasitación de 2,7 adultos (2,4 hembras y 1,5 machos por rana). La prevalencia de las microfilarias es 6,5% y la intensidad media de parasitación, 1,7 (expresado igual que en los protozoos, entre 1 y 3) y por lo tanto la prevalencia total es del 7,9% de las ranas con ejemplares adultos y/o microfilarias. Pero aún así, este nematodo es muy poco frecuente en la rana común de Ávila (Tabla 60).

Tabla 60

<i>I. neg.</i>	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	HEM	MAC	RAN	REN	VER	PRI	OTO	RÍO	S.TO	MAR	ALB	LAG	NIH	
Microfi.														
Nº +	14	14	0	0	21	6	1	4	10	4	9	1	0	28
I. M.	1,7	1,6	0,0	0,0	1,7	1,5	3,0	1,0	1,5	3,0	1,7	1,0	0,0	1,7
P. (%)	8,0	6,1	0,0	0,0	10,5	5,3	0,8	26,7	24,4	6,8	5,9	0,7	0,0	6,5
Hembras														
Nº +	6	7	0	0	10	2	1	2	4	4	2	1	0	13
I. M.	2,7	2,1	0,0	0,0	2,6	1,5	2,0	3,5	1,8	3,5	1,0	1,0	0,0	2,4
P. (%)	3,4	3,1	0,0	0,0	5,0	1,8	0,8	13,3	9,8	6,8	1,3	0,7	0,0	3,0
Machos														
Nº +	4	2	0	0	4	2	0	2	2	2	0	0	0	6
I. M.	1,3	2,0	0,0	0,0	1,5	1,5	0,0	1,0	1,5	2,0	0,0	0,0	0,0	1,5
P. (%)	2,3	0,9	0,0	0,0	2,0	1,8	0,0	13,3	4,9	3,4	0,0	0,0	0,0	1,4
Adultos														
Nº +	8	7	0	0	11	3	1	3	5	4	2	1	0	15
I. M.	2,6	2,7	0,0	0,0	2,9	2,0	2,0	3,0	2,0	4,5	1,0	1,0	0,0	2,7
P. (%)	4,6	3,1	0,0	0,0	5,5	2,7	0,8	20,0	12,2	6,8	1,3	0,7	0,0	3,5
TOTAL														
Nº +	16	17	0	0	26	7	1	6	13	4	9	2	0	34
P. (%)	9,2	7,4	0,0	0,0	13,0	6,2	0,8	40,0	31,7	6,8	5,9	1,4	0,0	7,9

Microfi.: Microfilaria.

Nº +: Número de ranas positivas a la infestación por este nematodo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (número de nematodos).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Adulto: hembras + machos de *I. neglecta*.

Total: adultos + microfilarias de *I. neglecta*.

Hem: rana Hembra, **Mac:** rana Macho, **Ran:** Ranita (juvenil) y **Ren:** Renacuajo.

Oto: Otoño, **Ver:** Verano y **Pri:** Primavera.

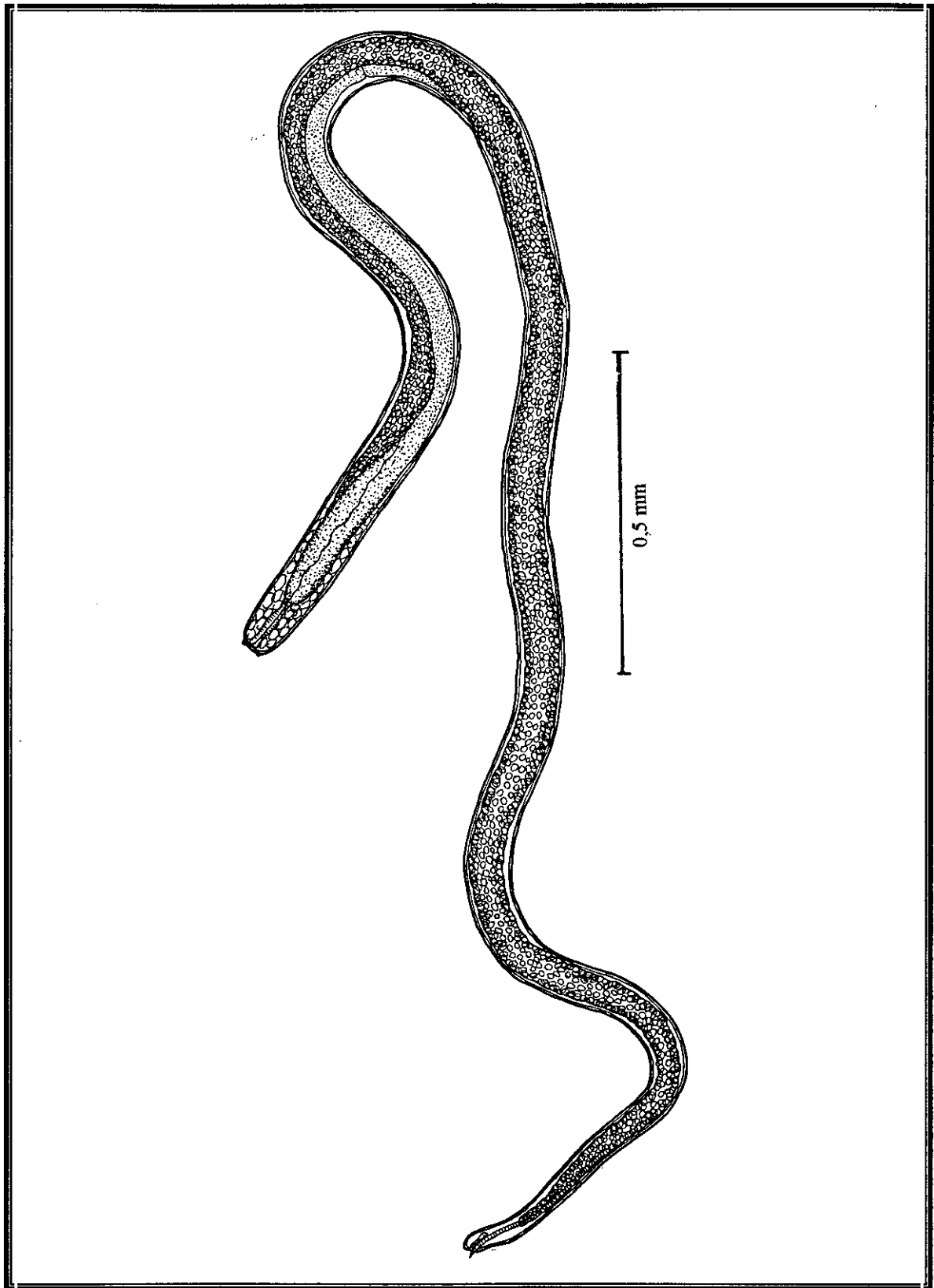
Nih: Niharra, **S.To:** Santo Tomé, **Alb:** Albornos, **Lag:** San Pedro del Arroyo (laguna), **Río:** San Pedro del Arroyo (río) y **Mar:** Marín.

Lo primero que se puede apreciar en *I. neglecta* es que la prevalencia de las formas larvarias es el doble que la de los adultos (6,5% y 3,5% respectivamente), siendo los nematodos hembras también, el doble que la de los machos (3,0% y 1,4% respectivamente). La intensidad media de infestación también es mayor en las hembras, con 2,4 ejemplares por rana, que en los machos, con 1,5 ejemplares por rana.

Por otro lado, este nematodo, tanto las formas adultas como las microfilarias, sólo se detecta en las ranas adultas, casi en la misma proporción entre las ranas hembras y las ranas machos y se encuentra ausente en las ranas jóvenes.

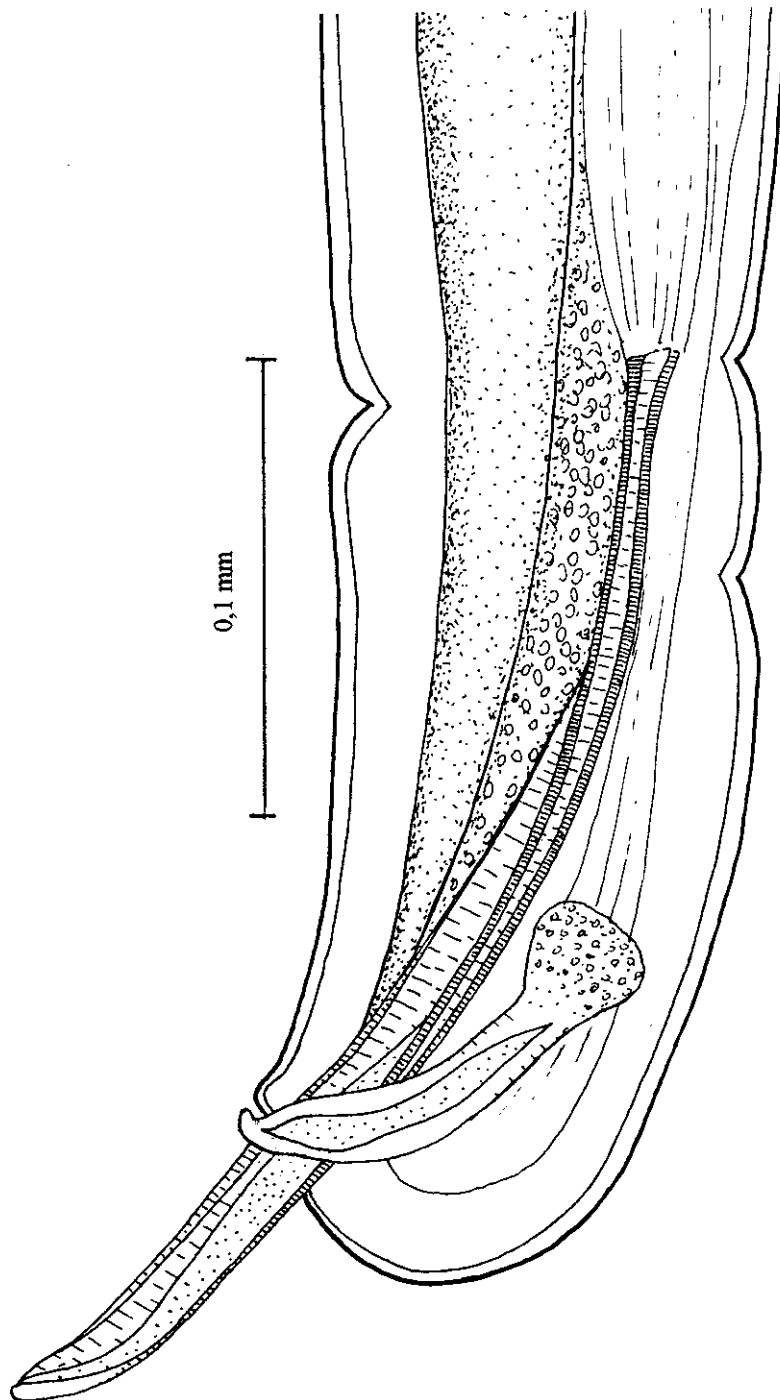
Sin embargo, con relación a las estaciones se observa que, tanto las formas adultas como las microfilarias, es en verano donde se da la mayor prevalencia, alcanzando el 13,0% más del doble que en primavera, donde tan sólo se acerca al 6,2%. En otoño el porcentaje de parasitación es mínimo, con sólo un 0,8%.

LÁMINA VII



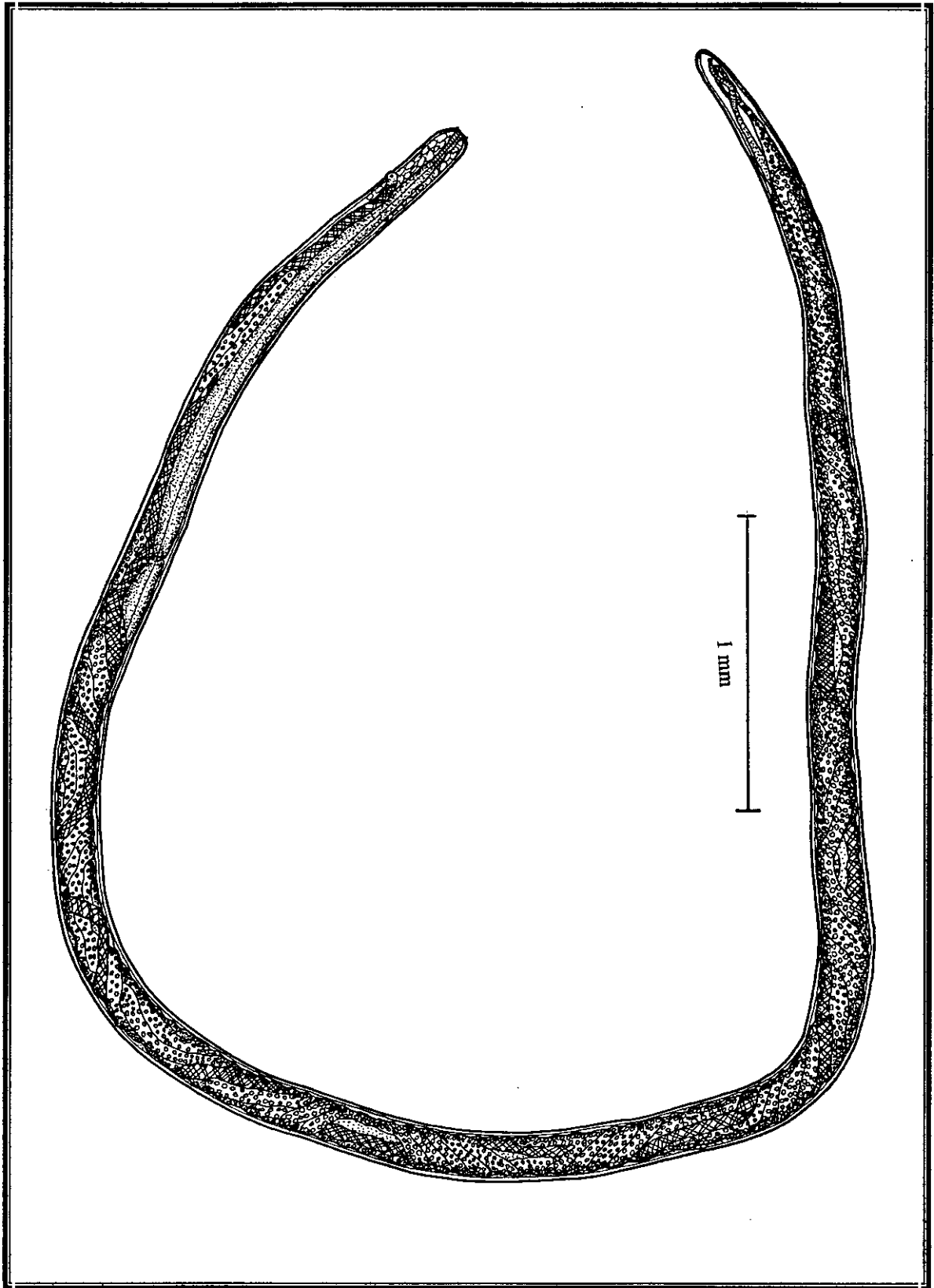
Icosiella neglecta. Macho.

LÁMINA VIII



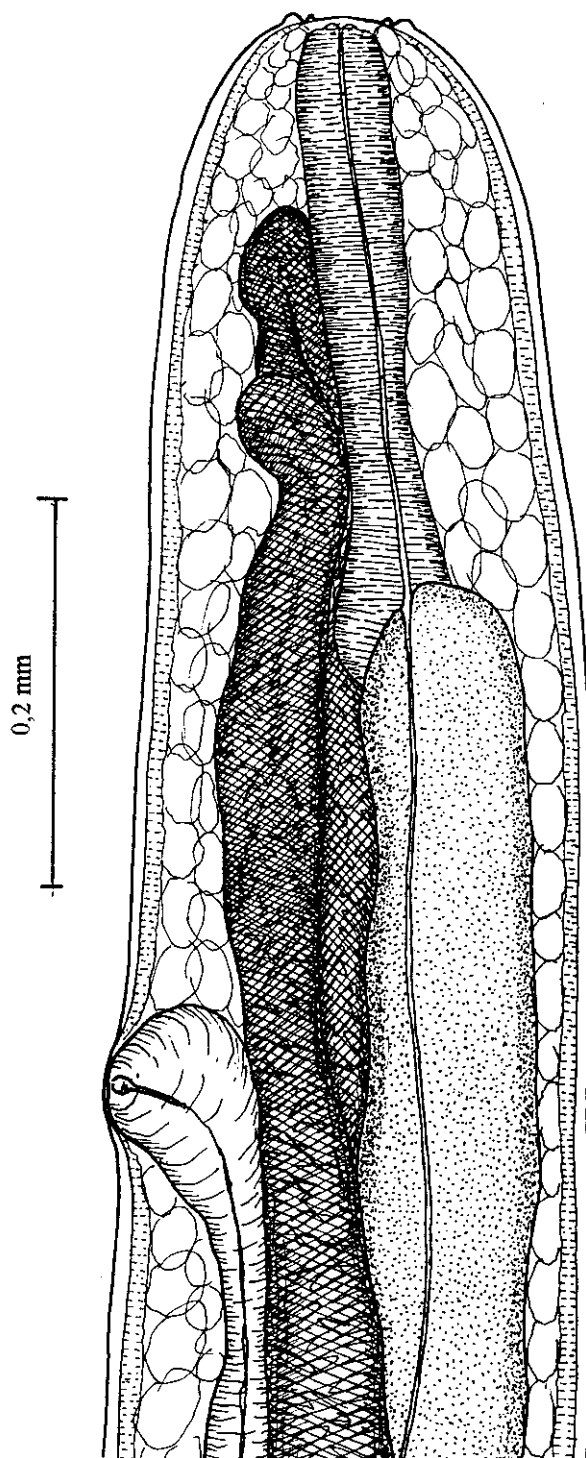
Icosiella neglecta. Macho (Extremo posterior).

LÁMINA IX



Icosiella neglecta. Hembra.

LÁMINA X



Icosiella neglecta. Hembra (Extremo anterior y Vulva).

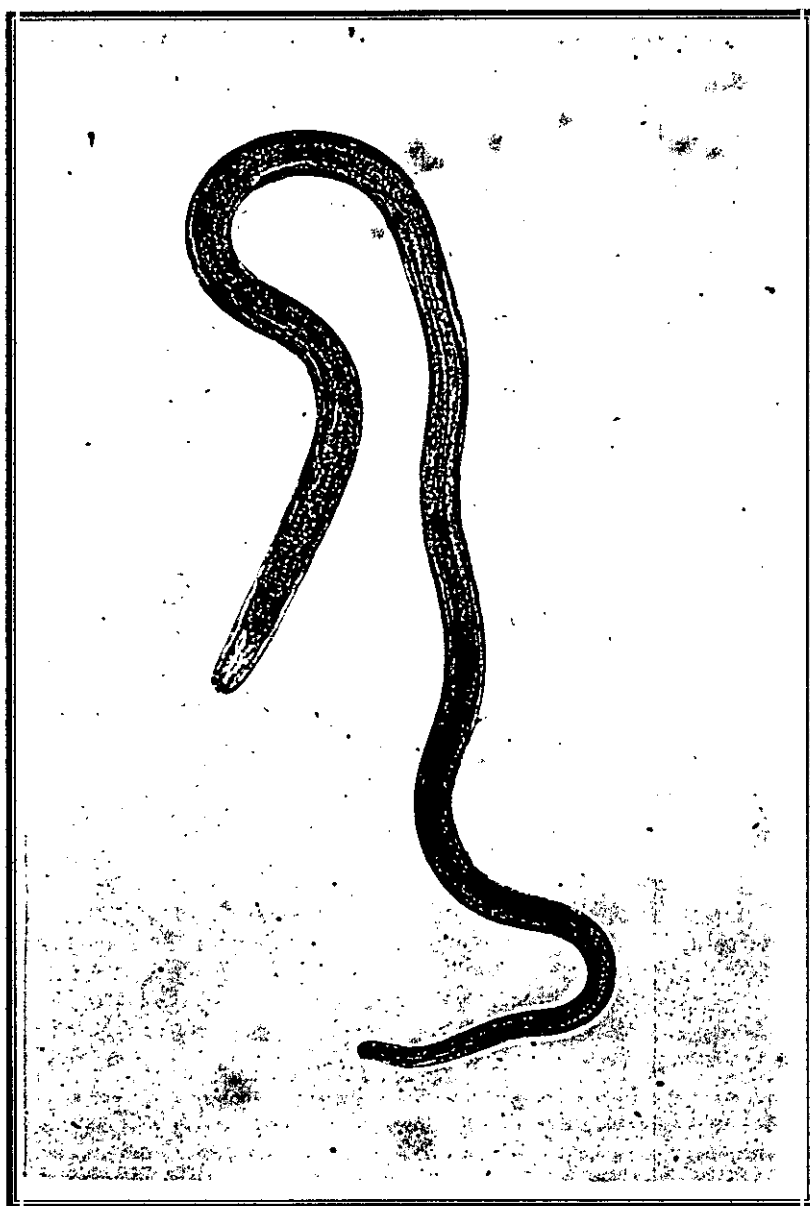


FOTO 65: *Icosiella neglecta* (45 x). Macho.

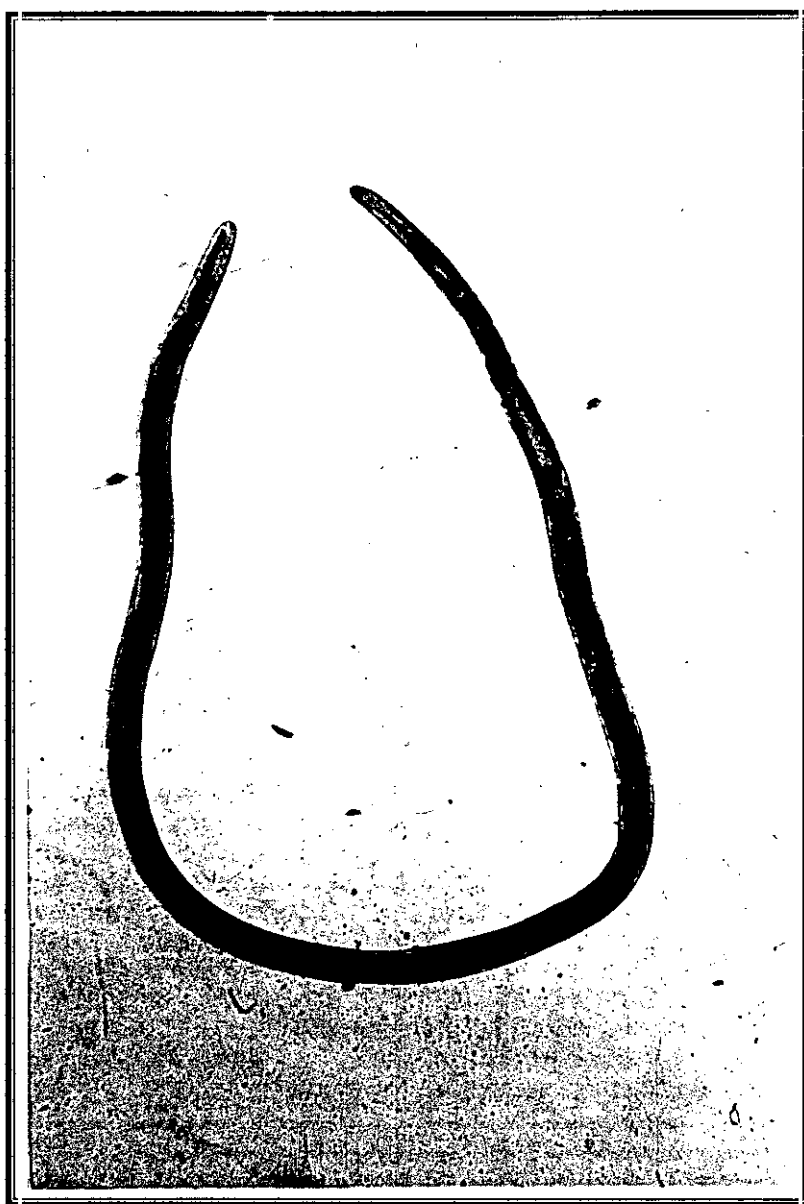


FOTO 66: *Icosiella neglecta* (24 x). Hembra.



FOTO 67: *Icosiella neglecta* (3150 x). Microfilaria (en sangre).

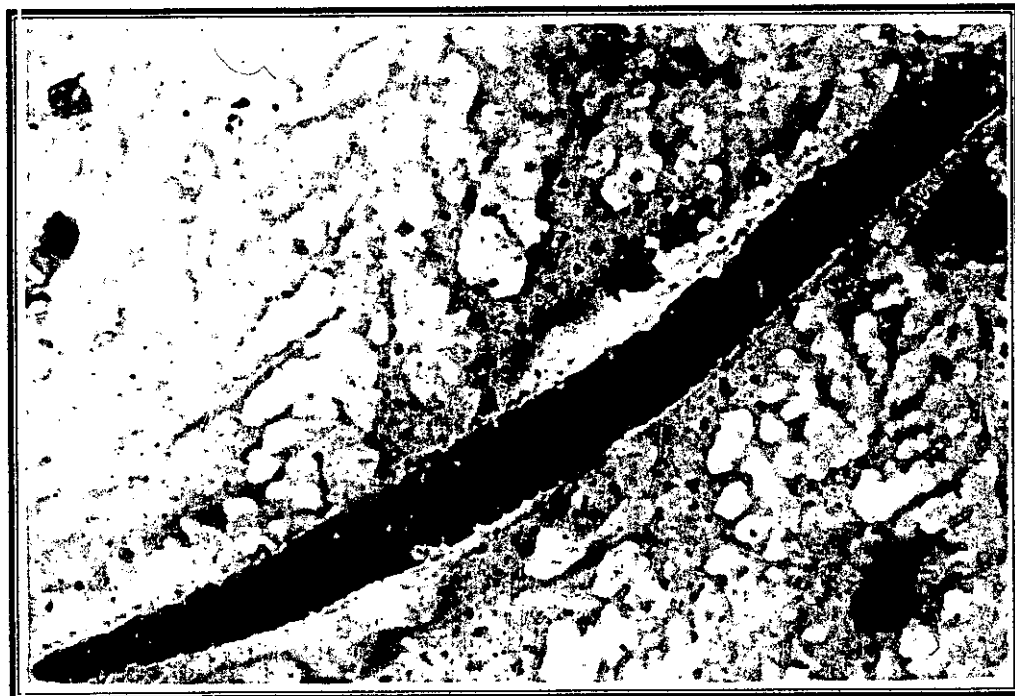


FOTO 68: *Icosiella neglecta* (3150 x). Microfilaria (en sanguijuela).

Con respecto a las localidades se observa una gran diferencia entre ellas y la prevalencia oscilan entre el 40,0% S.Tomé y 1,4% de S.Pedro (laguna), en Albornos no se ha encontrado ninguno. Este orden descendente en los valores de las localidades se mantiene tanto si se trata de nematodos adultos como de microfilarias.

Esta especie está muy distribuida por todo el mundo y también en *R. perezii* y otros anfibios de la Península Ibérica. Su presencia en Ávila (Sierra de Gredos) había sido señalada con anterioridad por Navarro y col. (1987) en *R. iberica*. Nosotros la hemos encontrado en *Rana perezii* de la zona llana de Ávila.

4.4.2.4. *Capillaria costacruzi* Travassos, 1932

Se localiza en el intestino grueso. El esófago, como en todas las especies del grupo, presenta una porción anterior muscular y otra posterior glandular característica.

MACHO

Es un poco más pequeño y fino que la hembra. La longitud del esófago es la mitad de la longitud total del cuerpo. La espícula está ligeramente quitinizada, y se encuentra rodeada de una vaina espinosa con espinas pequeñas. La longitud de la espícula según Travassos (1932) es 1,176-1,280 mm y según Rodrigues y col. (1972) de 0,525-0,530 mm. Nuestras medidas son mucho más pequeñas aun, de 0,342-0,381 mm (Láminas XI y XII y Foto 69).

HEMBRA

Es ligeramente más grande que el macho. La longitud del esófago es de 1/2,5 de la longitud total del cuerpo. La vulva está situada un poco más abajo de la terminación del esófago y presenta una vagina campaniforme sobresaliente, al igual que los ejemplares muy jóvenes. El útero tiene pocos huevos y de forma característica. Éstos son menores y aparecen en menor cantidad en las hembras jóvenes. El ano es terminal y el extremo posterior del cuerpo es estrecho y digitiforme (Láminas XIII, XIV y XV y Foto 70).

Los resultados biométricos de nuestra especie se exponen en las tablas siguientes.

<i>C. costacruzi</i> (Macho)	Media (μ m)	Desvia- ción \pm
Longitud total	3609	874
Anchura máxima	33	5
Longitud esófago	1664	223
Anch. media esófago	26	3
Longitud vaina	91	5
Longitud espícula	362	19

<i>C. costacruzi</i> (Hembra)	Media (μ m)	Desvia- ción \pm
Longitud total	4800	800
Anchura máxima	51	10
Longitud esófago	1886	404
Anch. media esófago	27	4
Dist. ext. cefálico-vulva	2045	287
Longitud huevos	44	2
Anchura huevos	25	5

Medidos 10 ejemplares

Los 82 ejemplares de *C. costacruzi* (49 hembras y 33 machos) encontrados en las muestras reflejan una prevalencia del 3,2% y una intensidad media de parasitación de 5,9 individuos por rana (3,8 en las hembras y 4,7 en los machos). Estos datos nos demuestran que nos encontramos ante un nematodo muy poco frecuente en la rana común de Ávila (Tabla 61).

Tabla 61

C. costacruzi	Sexo/Edad				Estación			Localidad						Total
	HEM	MAC	RAN	REN	VER	PRI	OTO	RÍO	S.TO	MAR	ALB	LAG	NIH	
Hembras														
Nº +	8	5	0	0	13	0	0	11	1	1	0	0	0	13
I. M.	4,8	2,2	0,0	0,0	3,8	0,0	0,0	4,3	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	3,8
P. (%)	4,6	2,2	0,0	0,0	6,5	0	0,0	7,2	6,7	2,4	0,0	0,0	0,0	3,0
Machos														
Nº +	4	3	0	0	6	1	0	6	0	1	0	0	0	7
I. M.	7,3	1,3	0,0	0,0	5,3	1,0	0,0	5,3	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	4,8
P. (%)	2,3	1,3	0,0	0,0	3,0	0,9	0,0	3,9	0,0	2,4	0,0	0,0	0,0	1,6
Adultos														
Nº +	8	6	0	0	13	1	0	11	1	2	0	0	0	14
I. M.	8,4	2,5	0,0	0,0	6,2	1,0	0,0	7,2	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	5,9
P. (%)	4,6	2,6	0,0	0,0	6,5	0,9	0,0	7,2	6,7	4,9	0,0	0,0	0,0	3,2

Nº +: Número de ranas positivas a la infestación por este nematodo.

I. M.: Intensidad media de parasitación (número de nematodos).

P. (%): Prevalencia dada como porcentaje.

Adulto: hembras + machos de *C. costacruzi*.

Hem: rana Hembra, Mac: rana Macho, Ran: Ranita (juvenil) y Ren: Renacuajo.

Oto: Otoño, Ver: Verano y Pri: Primavera.

Nih: Niharra, S.To: Santo Tomé, Alb: Albornos, Lag: San Pedro del Arroyo (laguna), Río: San Pedro del Arroyo (río) y Mar: Marín.

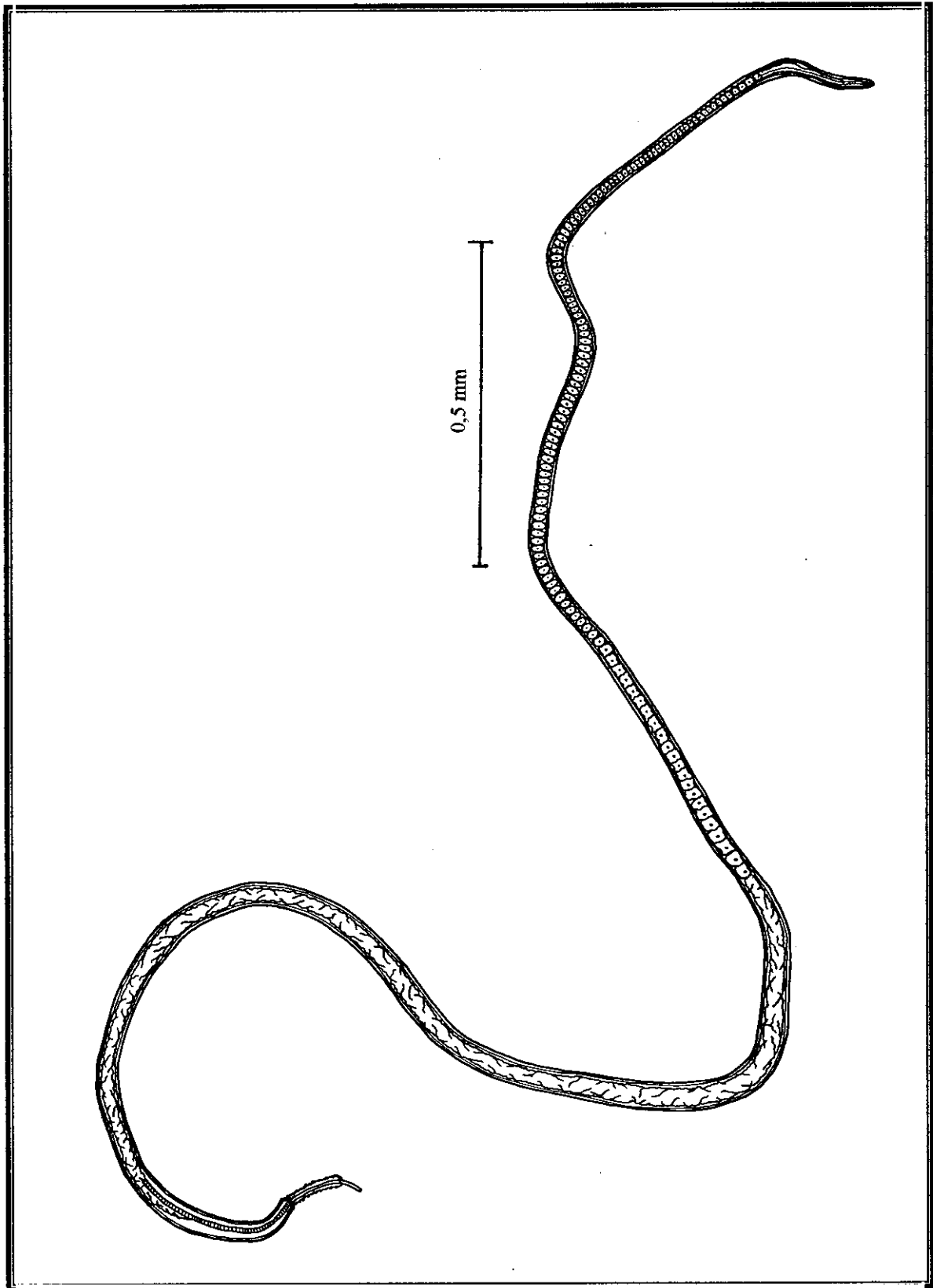
Se puede observar que la prevalencia de las hembras de *C. costacruzi* es el doble que la de los machos (3,0 % y 1,6% respectivamente) y sin embargo su intensidad media es mayor que en las hembras (4,8 y 3,8 respectivamente).

Por otra parte, podemos apreciar que esta especie sólo se encuentra en las ranas adultas y dentro de este grupo el porcentaje de parasitación en las ranas hembras es casi el doble que en las ranas machos (2,6% y 4,6% respectivamente).

Centrándonos en los distintos periodos del año, podemos decir que prácticamente sólo ha aparecido en verano, pues en primavera la parasitación es muy pequeña, sólo 0,9% y en otoño no se ha encontrado ninguno.

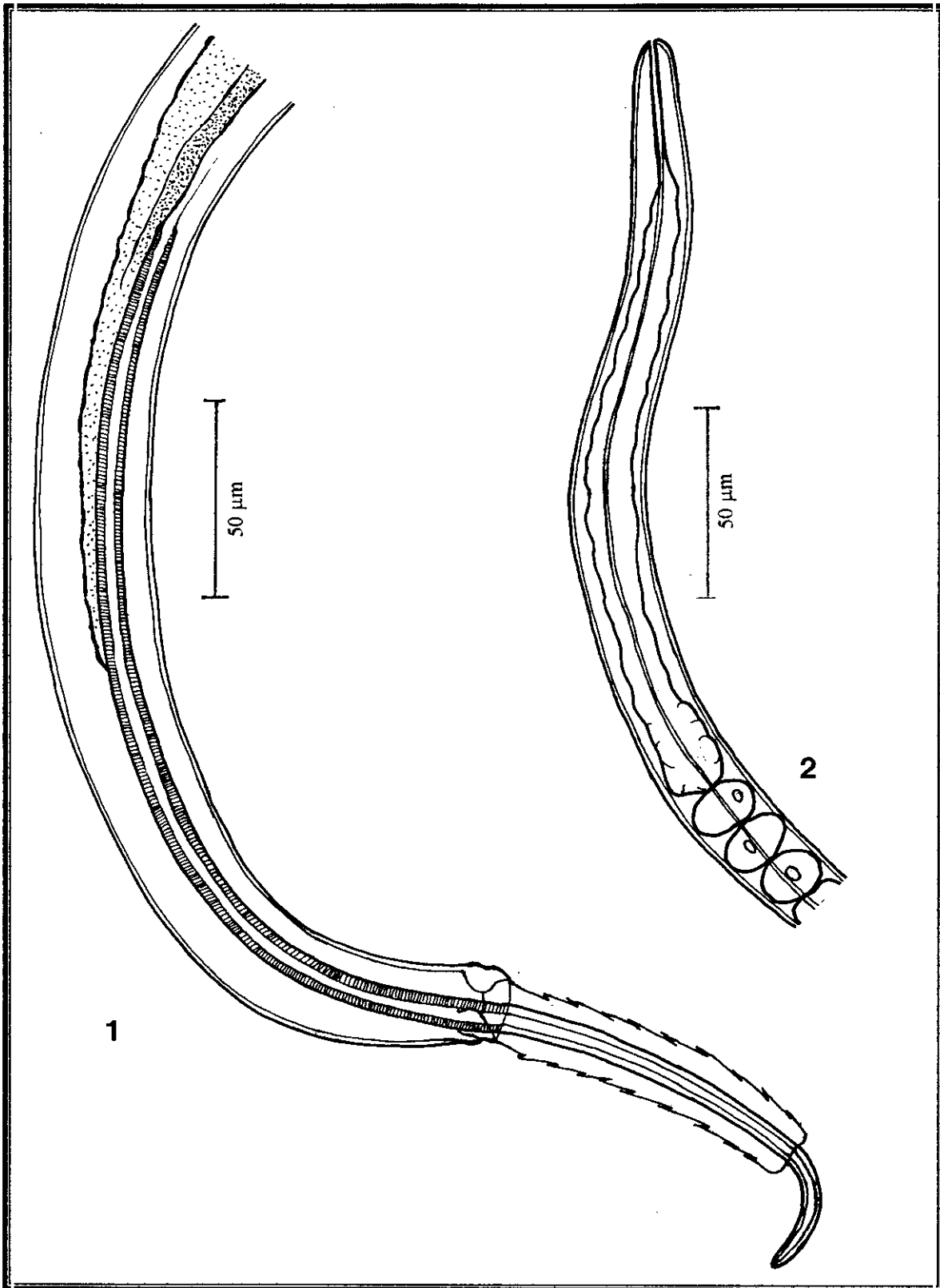
Entre las localidades analizadas, sólo ha aparecido esta especie en S.Pedro (río), S.Tomé y Marín, con similares índices de infestación, sin embargo su intensidad media es mucho mayor en S.Pedro (río) con 7,2 ejemplares por rana que en S.Tomé y Marín con sólo 1,0.

LÁMINA XI



Capillaria costacruzi. Macho.

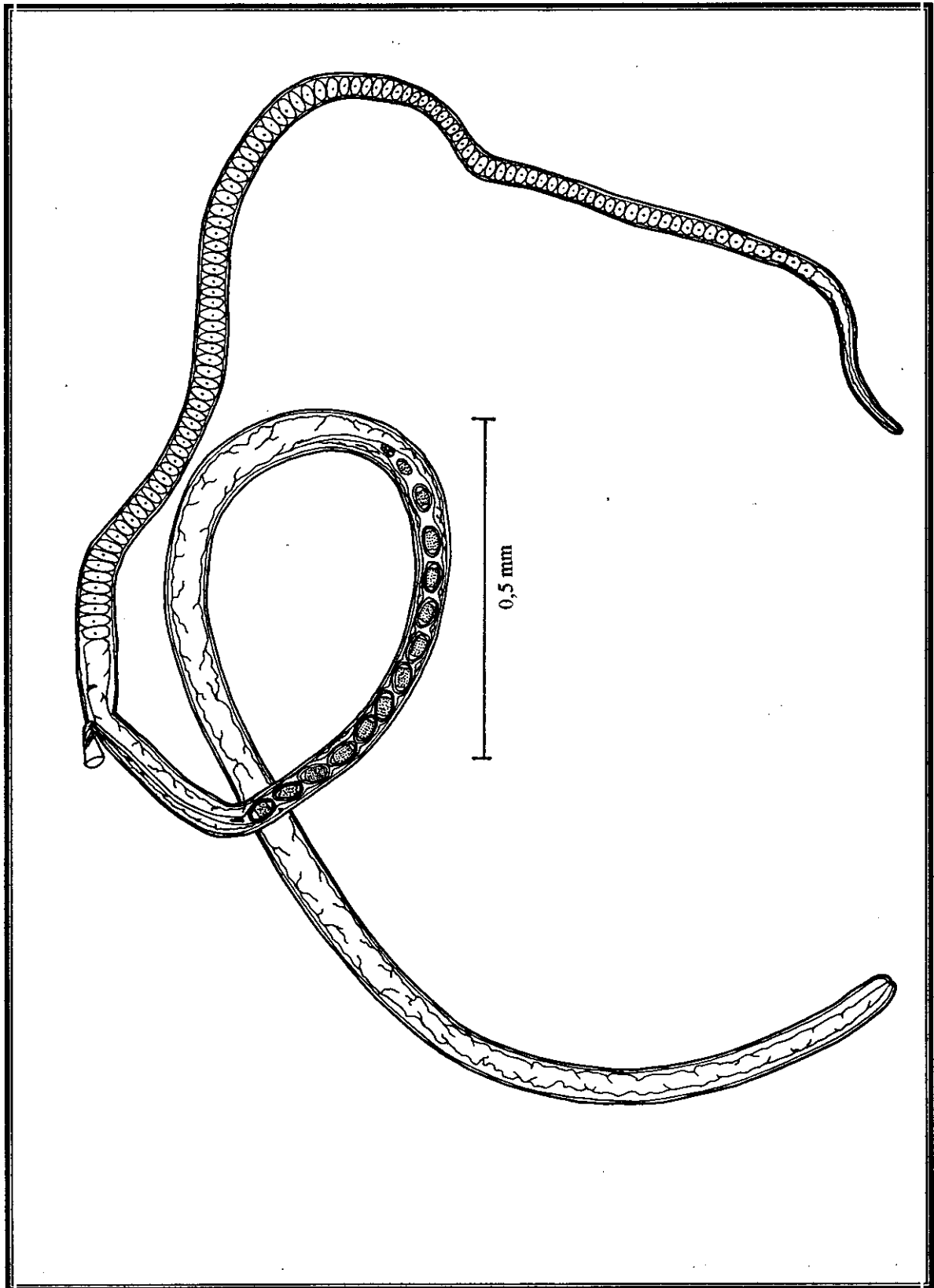
LÁMINA XII



Capillaria costacruzi. Macho.

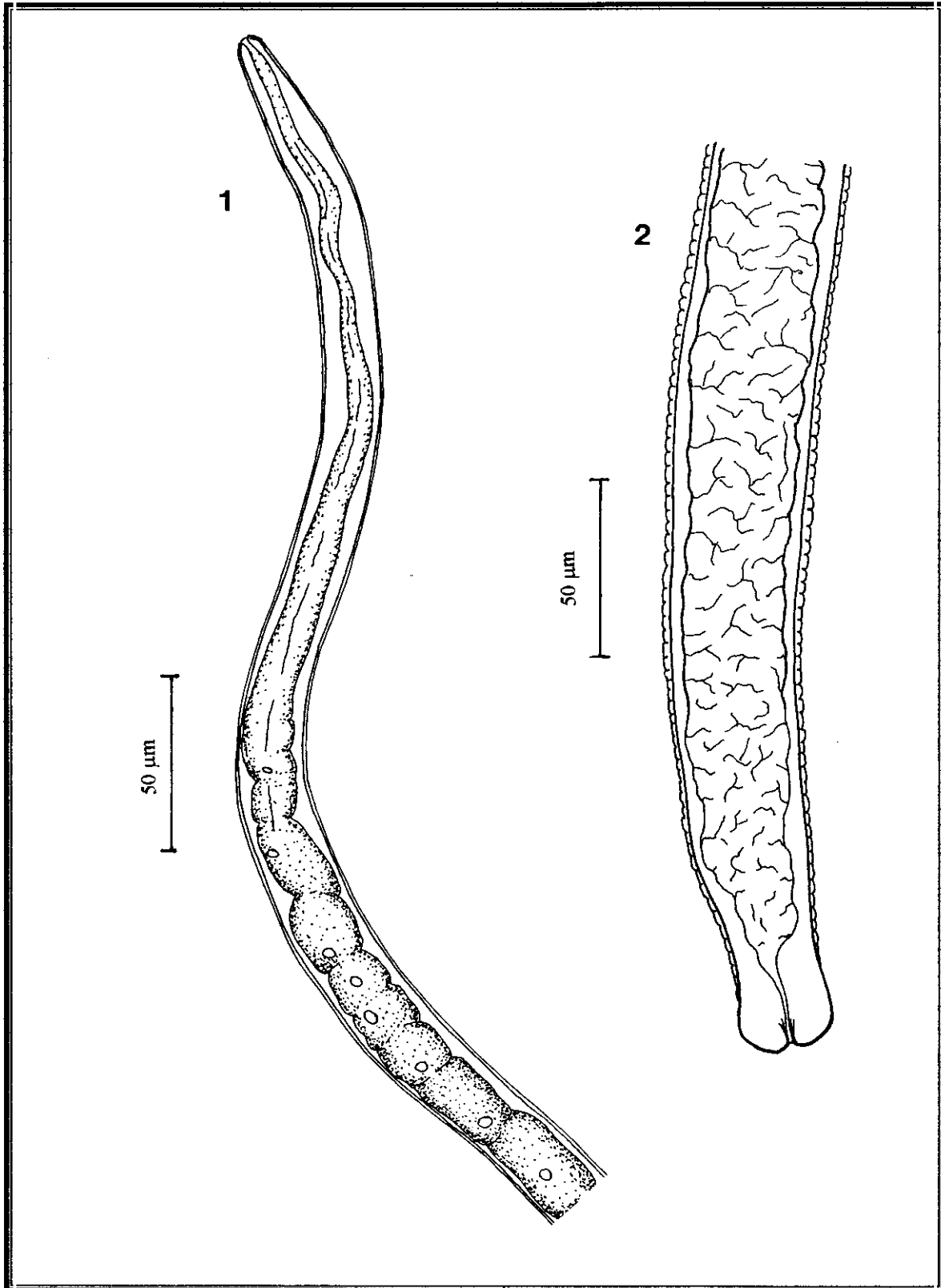
1: Extremo posterior. 2: Extremo anterior.

LÁMINA XIII



Capillaria costacruzi. Hembra.

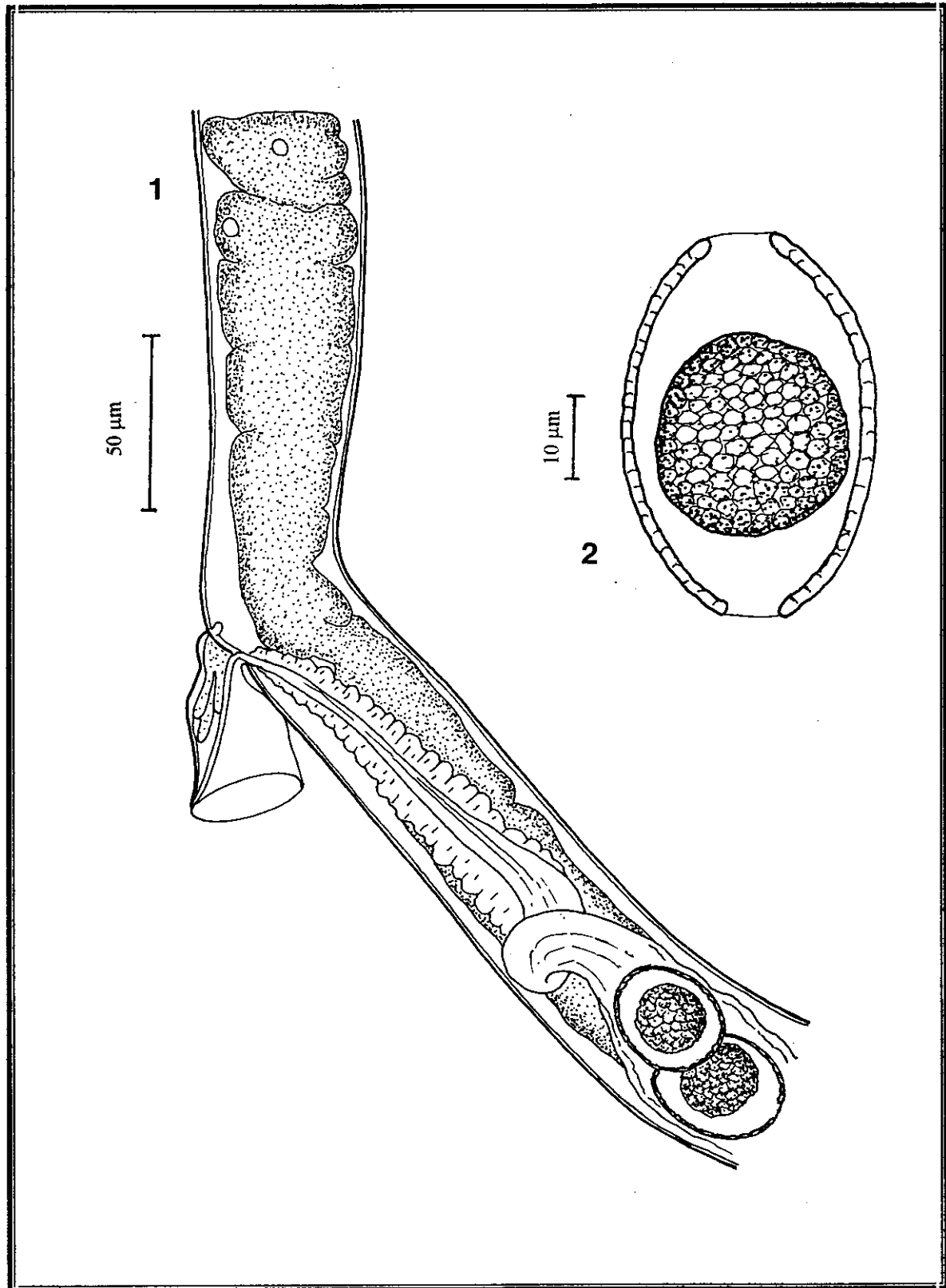
LÁMINA XIV



Capillaria costacruzi. Hembra.

1: Extremo anterior. 2: Extremo posterior.

LÁMINA XV



Capillaria costacruzi. Hembra.

1: Vulva. Figura. 2: Huevo.

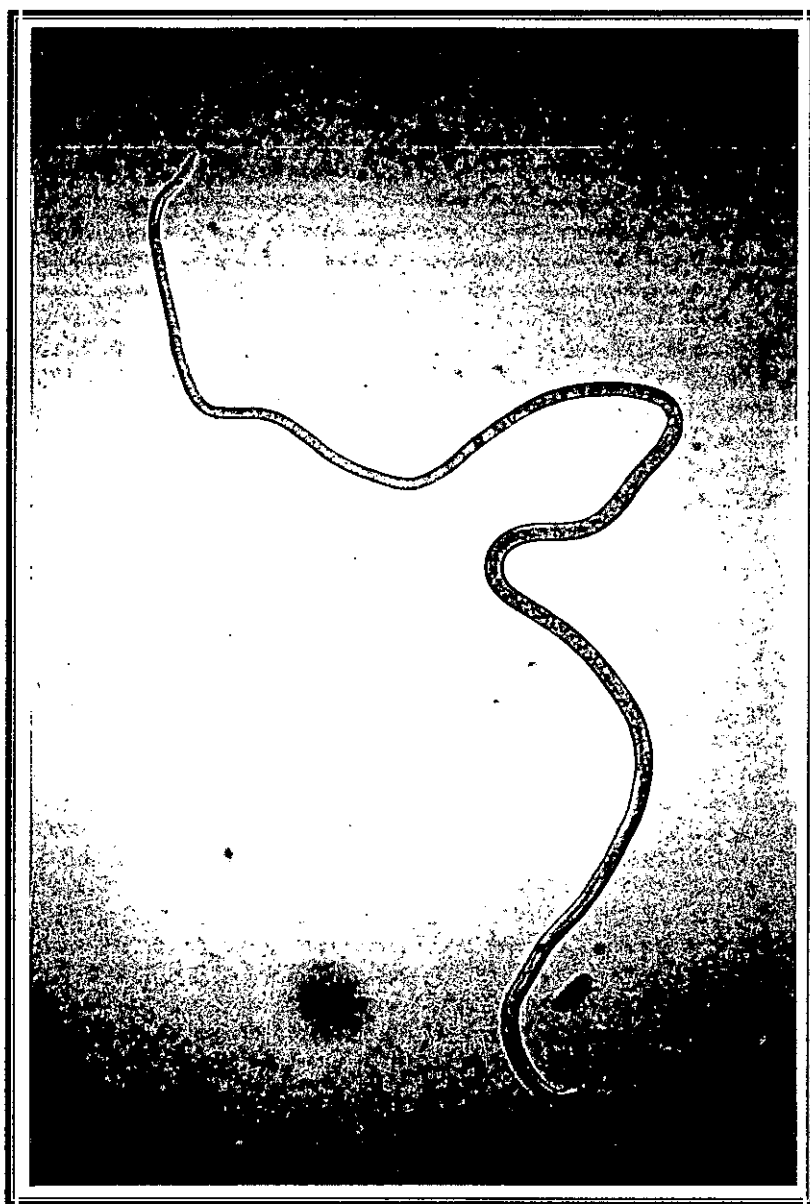


FOTO 69: *Capillaria costacruzi* (126 x). Macho.

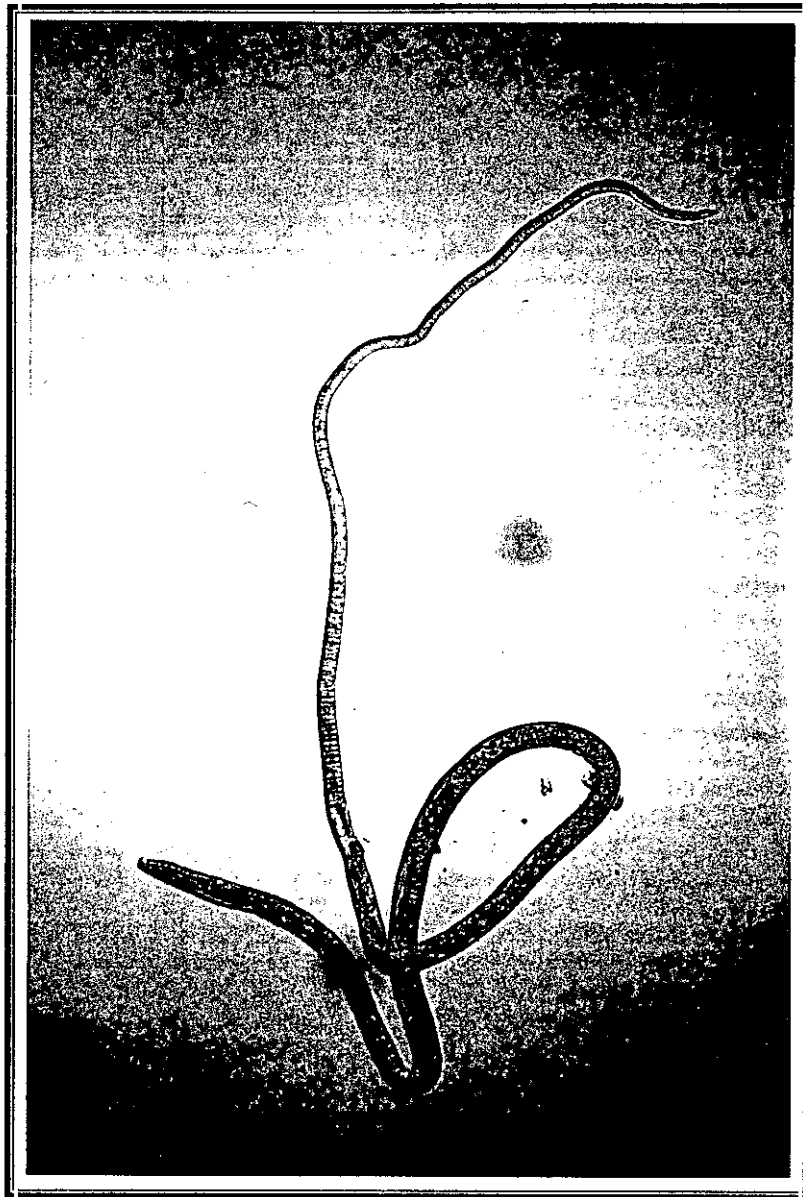


FOTO 70: *Capillaria costacruzi* (126 x). Hembra.

C. costacruzi sólo había sido descrita en *Rana* sp. y *R. esculenta* (que posiblemente sea *R. perezii*) de Portugal. Nosotros la hemos encontrado en *Rana perezii* de la zona llana de Ávila y por lo tanto se trata de una nueva cita de área geográfica.

4.4.3. OTROS NEMATODOS ENCONTRADOS EN ANFIBIOS IBÉRICOS

- *Acuaria* sp., en *Hyla meridionalis* y *R. perezii* de Levante.
- *Agamospirura* sp., en *H. meridionalis* de Baleares.
- *Amplichaecum* sp., en *R. perezii* de La Coruña y León.
- *Angusticaecum numidicum* Seurat, 1917, en *R. perezii* de Granada.
- *Aplectana acuminata* Schrank, 1788, en *R. perezii* de Granada.
- *Aplectana brumpti* Travassos, 1931, en *Bufo bufo* y *Bufo calamitas* de Almería y Valencia.
- *Aplectana corti* López-Neyra, 1947 en *Bufo calamitas* de Almería.
- *Aplectana macintoshii* (Steward, 1914) Karve, 1927, en *B. bufo*, *R. perezii* y *R. temporaria* de Alicante, Ávila, Cáceres, Castellón, Gerona, Huesca, Salamanca, Valencia y Coimbra.
- *Aplectana* sp., en *R. perezii* de La Coruña.
- *Cosmocerca conmutata* Diesing, 1851, en *R. perezii* y *R. temporaria* de Granada y Málaga.
- *Megalobatrachonema campanae* Chabaud et Golvan, 1957, en *Triturus marmoratus* de La Coruña.
- *Megalobatrachonema terdentatum* (Linstow, 1890) Hartwich, 1960, en *H. meridionalis*, *Pleurodeles waltli* y *Triturus marmoratus* de Ávila y La Coruña.
- *Neyraplectana mauritanicus* López-Neyra, 1947, en *R. perezii* de Granada.
- *Oswaldocruzia filiformis* (Goeze, 1782) Travassos, 1917, en *B. bufo*, *H. meridionalis*, *R. perezii*, *R. temporaria*, *R. iberica*, *Podarcis muralis* y *Lacerta vivipara* de Ávila, Barcelona, Canarias, Gerona, Huesca y Lugo.
- *Oxysomatium brevicaudatum* (Zeder, 1800) Railliet et Henry, 1916 en *Alytes obstetricans*, *B. bufo*, *Hyla arborea*, *R. Iberica*, *R. temporaria*, *Salamandra salamandra* y *Triturus narmoratus* de Ávila, Barcelona, Cáceres, Gerona, Huesca, Lérida, Lugo y Segovia.
- *Raphidascaris acus* (Bloch, 1772) Railliet et Henry, 1915, en *B. bufo* y *R. Iberica* de Huesca y Lugo.
- *Seuratascaris numidica* (Seurat, 1917) Sprent, 1895, en *H. meridionalis*, *R. perezii* y *R. iberica* de Ávila, La Coruña, Gerona, Granada, Huesca, Portugal, Salamanca y Valencia.
- *Spiroxys* sp., en *R. perezii* de Valencia.
- *Strongyloides bufonis* Rao et Singh, 1954, en *Bufo calamita* de Valencia.
- *Strongyloides mascomai* Navarro, Izquierdo, Lluch et Hornero, 1987, en *R. perezii* de Castellón y Valencia.

CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

1. En el estudio realizado sobre *R. perezi* procedente de diversas localidades de Ávila y en distintas épocas del año, hemos identificado un total de 41 especies de las cuales se establecen 11 como nueva cita de hospedador: *Aegyptianella bacterifera*, *Aegyptianella ranarum*, *Hexamita intestinalis*, *Brugerolleia algonquinensis*, *Trypanosoma rotatorium*, *Trypanosoma loricatum*, *Entamoeba ranarum*, *Eimeria prevoti*, *Lankesterella minima*, *Dactylosoma ranarum* y *Balantidium elongatum*. Todas las especies de bacterias sanguíneas y protozoos y el nematodo *Capillaria costacruzi*, son nuevas citas de área geográfica.
2. Entre los tripanosomas estudiados, dos de las cuatro especies no coinciden morfológicamente con las descritas en la bibliografía, por lo que existe la posibilidad de que se traten de especies nuevas. Se establecen los posibles pasos que tienen lugar en el proceso de división de *Trypanosoma* sp.2 por una fisión binaria desigual, originando células hijas tripomastigotes y epimastigotes al igual que sucede en *T. ogawai* Miyata, 1977.
3. Las dimensiones de los ejemplares de *Rhizomastix* no coinciden con *R. gracilis*, única especie descrita en este género, pudiéndose corresponder a diferencias del hospedador o ser una posible especie nueva.
4. Los merozoítos y los gametocitos de *Dactylosoma ranarum*, de nuestros ejemplares, son más grandes que los citados en la bibliografía. Pero para poder discernir si se trata de una nueva especie habría que comprobarlo mediante microscopía electrónica.
5. Recuperamos el nombre de la especie *B. enterocola* Alexeieff, 1911, descrita por diversos autores en anfibios, para los ejemplares de *R. perezi* de Ávila, por tener distinta morfología y distintos requerimientos de temperatura de cultivo que *Blastocystis hominis*.
6. Las diferencias biométricas de los ejemplares de *Brugerolleia algonquinensis*, en Ávila, con respecto a los de Canadá, pueden ser debidas a las diferentes áreas geográficas y a su distinto hospedador. No estamos de acuerdo con Desser y col. (1993) en que se trate de una parasitemia de flagelados entéricos, sino que creemos que es un flagelado hemático.
7. Consideramos a la sanguijuela *Batrachobdella algira* como vector, en *R. perezi* de Ávila, de *Icosiella neglecta*, *Lankesterella minima* y de una o varias especies de *Trypanosoma*.

8. Las medidas de los ejemplares de *Cosmocerca ornata* presentaron unos valores intermedios entre las dos subespecies de Europa y África por lo que es posible que se trate de una subespecie intermedia de las dos anteriores que habría que comprobar por técnicas de biología molecular.
9. Nuestros ejemplares de *Gorgoderia* se ajustan más a las medidas de las especies norteamericanas que a las europeas, por lo tanto no consideramos que pertenezcan a *Gorgoderia circava* var. *granatensis*, sino a *Gorgoderia amplicava*.
10. Desde el punto de vista corológico, los trematodos de *R. perezii* de Ávila, se asemejan a los de *R. iberica* del Oeste del Sistema Central y *R. temporaria* de los Pirineos Central y Oriental, lo que contrasta con *R. perezii* del Levante Ibérico, que tiene influencia helmíntica de origen Norteafricano.
11. En *R. perezii* de Ávila, han aparecido parásitos hemáticos, trematodos y nematodos pulmonares y musculares, no citados en *R. perezii* de las Islas Canarias, lo que podría atribuirse a la ausencia en las islas de los hospedadores intermediarios precisos.
12. En general, no se han observado grandes diferencias en la distribución de los parásitos con relación al sexo, época de captura y localidad del hospedador, pero sí con respecto a la edad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBARET, J.L. (1970). Observations cytologiques sur les nyctothères des genres *Proscicuophora* de Puytorac et Oktem et *Sicuophora* de Puytorac et Grain, ciliés parasites de batraciens anoures d'Afrique Noire. Description de deux espèces nouvelles. Protistologica, **6**: 183-198.

ALBARET, J.L. (1972). Description de cinq espèces nouvelles du genre *Nyctotheroides* Grassé, ciliés hétérotriches parasites de batraciens anoures malgaches. Bull. Mus. Nat. His. Nat. Zool., **44**: 521-531.

ALBARET, J.L. (1975). Etude systématique et cytologique sur les ciliés hétérotriches endocommensaux. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, **89**: 1-114.

ALEXEIEFF, A.G. (1909). Les flagellés parasites de l'intestin des batraciens indigènes. C. R. Soc. Biol. Paris, **67**: 199-201.

ALEXEIEFF, A.G. (1911). Notes sur les flagellés. Arch. Zool. Exper. et Gen., 5 Série, Tome VI: 491-530.

ALEXEIEFF, A.G. (1912). Sur quelques noms de genre des flagellés qui doivent disparaître de la nomenclature pour cause de synonymie ou pour toute autre raison. Diagnoses de quelques genres récemment étudiés. Zool. Anz., **39**: 674.

ALEXEIEFF, A.G. (1914). Notes protistologiques. Ibid, **43**: 515.

ALEXEIEFF, A.G. (1914). Notes protistologiques. Ibid, **44**: 193.

ALEXEIEFF, A.G. (1917). Mitochondries et corps parabasal chez les Flagellés. C. R. Soc. Biol. Paris, **80**: 358-361.

ALEXEIEFF, A.G. (1931). Sur quelques particularité de structure *Balantoides* (nom. nov.) *coli* (Malmsten). C. R. Soc. Biol. Paris, **107**: 210-211.

AMARO, A. (1966). Chave prática para a determinação das subfamílias, gêneros e subgêneros da família Opalinidae Clauss, 1874 (Sarcocystophora, Opalinata). Atas Soc. Biol. Rio de Janeiro. Vol. 10, **3**: 49-52.

AMARO, A. (1966). Chave prática para a determinação das subfamílias, gêneros e subgêneros da família Opalinidae Clauss, 1874 (Sarcocystophora, Opalinata). Atas Soc. Biol. Rio de Janeiro. Vol. 10, **3**: 49-52.

AMARO, A. y SENA, S. (1967). Dos opalinídeos (parátipos) da coleção Metcalf, depositada no American Museum of Natural History, los estados Unidos (Sarcocystidophora, Opalinata). Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro. Vol. 10, 6: 125-127.

AMARO, A. (1972). Revisão sistemática da família Plagiotomidae Bütschli 1887 (Ciliata, Heterotrichida). Atas Soc. Biol. Rio de Janeiro, 15: 83-85.

ANDERSON, R.C. (1958). On the classification of the Filarioidea with special reference to the Filariidae and the Stephanofiliidae. Bull. Soc. Zool. France, 83 (1): 144-157.

ANDERSON, R.C. and BAIN, O. (1976). CIH keys to the nematode parasites of vertebrates. Nº 3. Keys to genera of the order Spirurida. Part 3. Diplotriaenoidea, Aprocotoidea and Filarioidea. Commonwealth Agricultural Bureaux (C.A.B.), Farnham Royal, England. 58-116.

ANDERSON, R.C. and BAIN, O. (1982). CIH keys to the nematode parasites of vertebrates. Nº 9. Keys to genera of the superfamilies Rhabditoidea, Dioctophymatoidea, Trichinelloidea and Muspiceoidea. Commonwealth Agricultural Bureaux (C.A.B.), Farnham Royal, England. 26 pp.

ANDERSON, R.C. (1992). Nematode parasites of vertebrates. Their development and transmission. C.A.B. International. 578 pp.

ANDRADA, J. (1980). Guía de campo de los anfibios y reptiles de la Península Ibérica. Edic. Omega, S.A. Barcelona.

ANSARI, M.A.R. (1951). Contribution á l'étude du genre *Giardia* Kunstler, 1882 (Mastigophora, Octomitidae). Ann. Parasitol. Hum. Comp., 26: 447- 490.

ANSARI, M.A.R. (1952). Contribution á l'étude du genre *Giardia* Kunstler, 1882 (Mastigophora, Octomitidae). Ann. Parasitol. Hum. Comp., 27: 421- 479.

ANSARI, M.A.R. (1954). The genus *Retortamonas* Grassi (Mastigophora: Retortamonadida). Biologia, Lahore, 1: 40.

ARAGAO, H. de B. (1922). Études sur les *Blastocystis*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio J. 15: 143-151.

ARISTÓTELES (384-322). Las partes de los animales. En Samaranch, F. de P. (1964). Aristóteles. Obras. Aguilar. Madrid.

ARNOLD, E.N. y BURTON, J.A. (1878). Guía de campo de reptiles y anfibios de España y Europa. Ed. Omega S.A., Barcelona.

- BAER, J.G. (1924). Description of a new genus of Lepodermatidae (Trematoda) with a systematic essay on the family. Parasitology, 16: 22-31.
- BAKER, M.R. (1977). Parasitic protozoa. Vol. 1. Chapter 2. Sistematics of Parasitic Protozoa. Ed. Kreier, J. P. Academic Press, INC. U.S.A.
- BAKER, M.R. (1978). Morphology and taxonomy of *Rhabdias* spp. (Nematoda: Rhabdiasidae) from reptiles and amphibians of Southern Ontario. Canada Journal Zoology, 56: 2127-2141.
- BAKER, M.R. (1979). The free-living and parasitic development of *Rhabdias* spp. (Nematoda: Rhabdiasidae) in amphibians. Canada Journal Zoology, 57: 161-178.
- BAKER, M.R. (1980). Revision of *Entomelas* Travassos, 1930 (Nematoda: Rhabdiasidae) with a review of genera in the family. Syst. Parasit., 1: 83-90.
- BAKER, M.R. (1981). Cosmoceroid nematode parasites from frogs of southern Africa. Koedoe, 24: 25-32.
- BAKER, M.R. (1982). The nematodes parasites of amphibians and reptiles. Congreso Internacional de Parasitología. Toronto, Canadá.
- BAKER, M.R. (1984). Nematode parasitism in amphibians and reptiles. Canadian Journal of Zoology, 62: 747-757.
- BAKER, M.R. and VAUCHER, C. (1984). Parasitic helminths from Paraguay VI: *Cosmocerca* Diesing, 1861 (Nematoda: Cosmocercoidea) from frogs. Rev. Suisse Zool., 91: 925-934.
- BAKER, M.R. (1987). Synopsis of the nematoda parasitic in amphibians and reptiles. Ed. Dr. Gordon F. Bennett Dep. Biology. Memorial University of Newfoundland. Canada. Nº 11: 325 pp.
- BAILLENGER, J. et CHANSEAU, J. (1954). Etude des vers parasites des amphibiens anoures de la region de Bordeaux. Ann. de Parasitologie, 29 (5-6): 546-560.
- BAKER, M.R. (1978). Morphology and taxonomy of *Rhabdias* spp. (Nematoda: Rhabdiasidae) from reptiles and amphibians of southern Ontario. Can. J. Zool., 56: 2127-2141.
- BAKER, M.R. (1982). Nematode parasites of frog. Memoires du Muséum National L'Histoire Naturelle, Ser. A., 123: 265-270.
- BAKER, M.R. (1983). Nematode parasitism in amphibians and reptiles. Can. J. Zool., 62: 747-757.

- BALBIANI, E.G. (1882). Les sporozoaires. Seconde partie du cours d'embryogénie comparé professé au Collège de France pendant le second semestre de 1882. J. Microg. 6: 281-290, 348-356, 448-457, 514-524, 565-574, 615-627.
- BALFOUR, A. (1907). A spirillosis and a haematozoal disease of domestic fowls in the Anglo-Egyptian Sudan. Preliminary note. Br. Med. J., 1: 744-745.
- BALFOUR, A. (1907). A peculiar blood condition, probably parasitic, in Sudanese fowls. J. Trop. Med. Hyg., 10: 153-157 and 322-323.
- BALFOUR, A. (1907). A peculiar blood condition, probably parasitic, in Sudanese fowls. Brit. Med. J., 2445: 1330-1333.
- BALFOUR, A. (1908). Spirochaetosis of Sudanese fowls. Rep. Wellcome Trop. Res. Lab., 3: 38-58.
- BALFOUR, A. (1911). The role of the infective granule in certain protozoal infections as illustrated by the spirochaetosis of Sudanese fowls. Preliminary note. J. Trop. Med. Hyg., 14: 113-114.
- BALFOUR, A. (1911). Spirochaetosis of Sudanese fowls. Rep. Wellcome Trop. Res. Lab., 4A: 76-107.
- BALFOUR, A. (1913). A contribution to the life-history of spirochaetes. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr., Abt. 1 Orig., 70: 182-185.
- BALFOUR, A. (1914). Notes on the life-history of the Sudan fowl spirochaetes. Arch. Schiffs. Trop. Hyg., 18, Suppl.: 844-845.
- BALFOUR, A. (1923). Note by Dr. Andrew Balfour on the above paper. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 16: 484-485.
- BALLESTEROS-MÁRQUEZ, A. (1945). Revisión de la familia Cosmocercidae, Travassos, 1925. Revista Ibérica de Parasitología, Tomo extraordinario: 150-180.
- BARBADILLO-ESCRIVA, L.J. (1987). La guía de Incafo de los anfibios y reptiles de la Península Ibérica, islas Baleares y Canarias. Ed. Incafo S.A., Madrid, España. 694 pp.
- BARDSLEYS, J.E. and HARMSSEN, R. (1973). The trypanosomes of Anura. Adv. Parasitol. Academic Press, London and New York. Vol. 11: 1-73.
- BARROW, J.H. (1954). The biology of *Trypanosoma diemyctyli*, Tobey. II. Cytology and morphology of *Trypanosoma diemyctyli* in the vertebrate host *Triturus v. viridescens*. Trans. Am. Microsc. Soc., 73: 242-257.

- BARTA, J.R. and DESSER, S.S. (1984). Blood parasites of amphibians from Algonquin Park, Ontario. Journal of Wildlife Diseases, 20 (3): 180-189.
- BARTA, J.R. and DESSER, S.S. (1986). Light and electron microscopic observations on the intraerythrocytic development of *Babesiosoma stableri* (Apicomplexa, Dactylosomatidae) in frogs from Algonquin Park, Ontario. Journal of Protozoology, 36: 359-368.
- BARTA, J.R., BOULARD, AND. and DESSER, S.S. (1987). Ultrastructural observations on secondary merogony and gametogony of *Dactylosoma ranarum* Labbé, 1894 (Eucoccidiida; Apicomplexa). J. Parasitol., 73 (5): 1019-1029.
- BARTA, J.R., BOULARD, AND. and DESSER, S.S. (1989). Blood parasites of *Rana esculenta* from Corsica: comparison of its parasites with those of Eastern North America ranids in the context of host phylogeny. Trans. Am. Microsc. Soc., 108 (1): 6-20.
- BARTA, J.R. (1991). The Dactylosomatidae. Capter 1. Vol. 30. In Advances in parasitology. Ed. Baker, J.R. and Muller, R. Academic Press.
- BASIR, M.A. (1949). An easy method for the preparation of enface view of small nematodes. Trans. Am. Micr. Soc., 68: 123-126.
- BASSON, L. and VAN AS, J.G. (1989). Differential diagnosis of the genera in the family Trichodinidae (Ciliophora: Peritrichida) with the description of a new genus ectoparasitic on frehwater fish from southern Africa. Systematic Parasitology, 13: 153-160.
- BATISTA DÍAZ N., MASCARO LAZCANO C., GUEVARA BENÍTEZ D.C., OSUNA-BAYLIS, H.A. (1923). Report on a collection of parasitic nematodes, mainly from Egypt. Part I. Ascaridae and Heterakidae. Part II. Oxyuridae. Part III. Camallanidae etc. With a note on *Probstmayria* and an appendix on Acanthocephala. Parasitology, 15: 1-38.
- BAYLIS, H.A. (1931). On the structure and relationships of the Nematode, *Capillaria (Hepaticola) hepatica* (Bankroft). Parasitology, Cambridge, 23: 533-544.
- BECKER, C.D. (1977). Flagellate parasites of fish. Parasitic Protozoa (Kreier, J. P., ed.) Vol. I : 357-476.
- BELOVA, L.M. and KOSTENKO, L.A. (1990). *Blastocystis galli* sp.n. (Protista: Rhizopoda) from the intestine of domestic hens. Parazitologiya, 24: 164-168.
- BELOVA, L.M. (1995). *Blastocystis* fauna. Parazitologiya, 29 (3): 208-213.

- BENSEN, W. (1909). Untersuchungen über Trichomonas intestinalis und vaginalis des Menschen. Ibid. T. 18, 115 pp.
- BERLAND, B. (1984). Basic technique involved in helminth preservation. Systematic parasitology, 6: 242-245.
- BERSON, J.P. (1964). Les protozoaires des hématies et du système histiocytaire des oiseaux. Essai de nomenclature. Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop., 17: 43-96.
- BEZZENBERGER, E. (1904). Über Infusorien aus asiatischen Anuren. Archiv für Protistenkunde, 3: 138-174
- BHATIA, B.L. and GULATI, A.N. (1927). On some parasitic ciliates from Indian frogs, toads, earthworms and cockroaches. Archiv für Protistenkunde, 57:
- BISHOP, A. (1931). A description of *Embadomonas* n. spp. from *Blatta orientalis*, *Rana temporaria*, *Bufo vulgaris*, *Salamandra maculosa*; with a note upon the cyst of *Trichomonas batrachorum*. Parasitology, 23: 286-300.
- BISHOP, A. (1932). A note upon *Retortamonas rotunda* n. sp. and intestinal flagellate in *Bufo vulgaris*. Parasitology, 24: 233-237.
- BISHOP, A. (1935). Observations upon *Chilomastix* from *Bufo vulgaris* with note on *Chilomastix aulastomi*. Parasitology, 27: 501-518.
- BLANCHARD, R. (1893). Sanguijuelas de la Península Ibérica. An. Soc. Española Hist. Nat., 22: 243-258.
- BLANCHARD, R. (1895). Les vers du sang. Les hématozoaires de l'homme et des animaux. Paris: 1-181.
- BODIAN, D. (1937). The staining of paraffin sections of nervous tissues with activated protargol. The role of fixatives. Anat. Rec., 69: 153-162.
- BOISSON, C. (1957). Opalines et ciliés parasites de quelques batraciens de la région de Saïgon (Viet Nam). Ann. Sci. Nat. Zool. Biol. Anim., 19: 573-585.
- BOREHAM, P.F.L. (1993). *Blastocystis* in humans and animals: morphology, biology and epizootiology. Advances in Parasitology, 32: 1-70.
- BOREHAM, P.F.L. and STENZEL, D.J. (1996). The current status of *Blastocystis hominis*. Parasitology Today, 9 (7): 251.

- BOULARD, Y., VIVIER E. and LANDAU I. (1982). Ultrastructure de *Dactylosoma ranarum* (Kruse, 1890); affinités avec les coccidies; revision du statut taxonomique des dactylosomides. Protistologica, 18: 103-121.
- BOX, E. (1970). *Atoxoplasma* associated with an isosporan oocyst in canaries. J. Protozool., 17: 391-396.
- BRUG, S.L. (1907). Trichomonascysten. Geneesk. Tydschr. v. Nederl. Indie., 57: 347.
- BRUGEROLLE, G. (1973). Étude ultrastructurale du trophozoite et du kyste chez le genre *Chilomastix* Alexeieff, 1910 (Zoomastigophora, Retortamonadida Grassé, 1952). Jour. Protozool., 20: 574-585.
- BRUGEROLLE, G. (1973). Sur l'existence de vrais kystes chez les Trichomonadines intestinales. Ultrastructura des kystes de *Trichomitus batrachorum* (Perty, 1852) *Trichomitus sanguisugae* (Alexeieff, 1911) et *Monocercomonas tipulae* (Mackinnon, 1910). C. R. Acad. Sci. Paris, 277: 2153-2196.
- BRUGEROLLE, G. (1973). Contribution a l'étude cytologique et phylétique des diplozoaires (Zoomastigophorea, Diplozoa, Dangeard 1910). II. Étude ultrastructurale du genre *Spiromucleus* (Lavier, 1936). Protistologica, 9 (4): 495-502.
- BRUGEROLLE, G. (1974). Contribution a l'étude cytologique et phylétique des diplozoaires (Zoomastigophorea, Diplozoa, Dangeard 1910). III. Étude ultrastructurale du genre *Hexamita* (Dujardin, 1836). Protistologica, 10 (4): 457-463.
- BRUGEROLLE, G. (1974). Contribution a l'étude cytologique et phylétique des diplozoaires (Zoomastigophorea, Diplozoa, Dangeard 1910). IV. Étude ultrastructurale du genre *Octomitus* (Prowazek, 1904). Protistologica, 10 (4): 457-463.
- BRUGEROLLE, G. (1975). Contribution a l'étude cytologique et phylétique des diplozoaires (Zoomastigophorea, Diplozoa, Dangeard 1910). V. Nouvelle interprétation de l'organisation cellulaire de *Giardia*. Protistologica, 11 (1): 99-109.
- BRUGEROLLE, G. (1975). Contribution a l'étude cytologique et phylétique des diplozoaires (Zoomastigophorea, Diplozoa, Dangeard 1910). VI. Caractères généraux des diplozoaires. Protistologica, 11 (1): 111-118.
- BRUGEROLLE, G. and JOYON, L. (1975). Etude cytologique ultrastructurale des genres *Proteromonas* et *Karotomorpha* (Zoomastigophorea Proteromonadida Grassé 1952). Protistologica, 11: 531-546.
- BRUGEROLLE, G. (1975-76). Cytologique ultrastructurale, systematique et evolution des Trichomonadida. Annales de la station biologique de Besse-enchandesse. Université de Clermont.

- BRUGEROLLE, G. (1977). Ultrastructure des genre *Retortamonas* Grassi, 1879 (Zoomastigophorea, Retortamonadida, Wenrich, 1931). Protistologica, 13: 233-240.
- BRUGEROLLE, G. and TAYLOR, F.J.R. (1977). Taxonomy, cytology and evolution of the Mastigophora. Proceedings of the Fifth International Congress of Protozoology. 14-28.
- BRUMPT, E. (1906). Role pathogène et mode de transmission du *Trypanosoma inopinatum* Ed. et Et. Sargent. Mode d'inoculation d'autres trypanosomes. C. R. Soc. Biol. Paris, 61: 167-169.
- BRUMPT, E. (1912). Colite à *Tetramitus mesnili* Wenyon, 1910 et colite à *Trichomonas intestinalis* Leuckart, 1879; *Blastocystis hominis* n. sp. et formes voisines. Bull. Soc. Pathol. Exot., 5: 725-730.
- BRUMPT, E. (1912). Còlite à Tetramitus Mesnili (Wenyon, 1910) et Còlite à *Trichomonas intestinalis* Leuckart, 1879. *Blastocystis hominis* n. sp. et formes voisines. Bull. Soc. Pathol. Exot., 5: 725-730.
- BRUMPT, E. (1915). Cycle évolutif des opalines. Bull. Soc. Pathol. Exot., 8: 397-404.
- BRYGOO, E.R. (1963). Contribution à la connaissance de la parasitologie des Caméléons malgaches. Ann. Parasitol. Hum. Comp., 38: 526-739.
- BURDEN, D.J., (1976). *Blastocystis* sp. -a parasite of pigs. Parasitology 73: 4-5.
- BURDEN, D.J., ANGER, H.S. and HAMMET, N.C. (1978/79). *Blastocystis* sp. infections in pigs. Vet. Microbiol., 3: 227-234.
- BURTON, P.R. and DUSANIC, D.G. (1968). Fine structure and replication of kinetoplast of *Trypanosoma lewisi*. J. Cell Biol., 39: 318-331.
- BÜTSCHLI, O. (1880-1889). Bronn's klassen 1; (1880-1882) Sarkodina und Sporozoa Part 1: 1-616; (1883-1887) Mastigophora Part 2: 617-1097; (1887-1889) Infusoria und System der Radiolaria Part 3: 1098-2035. C. F. Ed. Winter, Leipzig.
- BUTTERWORTH, E.W. and BEVERLEY-BURTON, M. (1980). The taxonomy of *Capillaria* spp. (Nematoda: Trichuroidea) in carnivorous mammals from Ontario, Canada. Syst. Parasit., 1: 211-236.
- CAJA DE AHORROS DE ÁVILA (1985). Notas entorno a la evolución económica de la provincia de Ávila. Ed. Diario de Ávila, S.A.

- CAMP, R.R., MATTERN, C.F.T. and HONIGBERG, B.M. (1974). Estudi of *Dientamoeba fragilis* Jepp and Dobel. J. Protozool., **21**: 69-82.
- CARINI, A. (1910). Stades endoblobulaires des trypanosomes. Ann. Inst. Pasteur, **24**: 143-151.
- CARPANO, M. (1928). Piroplasmosis in Egyptian fowl (*Egyptianella pullorum*). Bull. Minist. Agric., Egypt., **86**: 1-12.
- CARPANO, M. (1929). Su di un Piroplasma osservato nei polli in Egitto (*Egyptianella pullorum*). Nota preventiva. Clin. Vet., **52**: 339-351.
- CARRERA, M.P., (1984). Parasitofauna de anfibios de las Islas Canarias. Tesina de Licenciatura. Facultad de Farmacia. Madrid.
- CARRERA, M.P., ZAPATERO, L.M., GONZALEZ, P.M. (1987). *Monocercomonas maculatus* n. sp. (Protozoa: Trichomonadida) de anfibios anuros de las Islas Canarias. Rev. Ibér. Parasitol., **47** (1): 1-6.
- CARRERA, M.P., ZAPATERO, L.M., CASTAÑO, C. (1987). Protozoos parásitos de anfibios de anuros de las Islas Canarias. Rev. Ibér. Parasitol., **47** (2): 113-119.
- CARILLO A. (1982). Capacidad patógena para el ratón albino de algunas especies de *Acanthamoeba* y *Hartmannella*. Revista Ibérica de Parasitología, **42**: 95-102.
- CARVALHO-VALERA, M. and col. (1981). Parasites and parasitoses in fish culture in Portugal. J. of the World Mariculture Society, **12**: 9.
- CAVALIER-SMITH, T. (1993). Kingdom Protozoa and its 18 Phyla. Microbiological Reviews, **54** (4): 953-994.
- CERVA, L. (1971). Studies of limax amoebae in a swimming pool. Hidrobiologia, **38**: 141-161.
- CERVA, L., SERBUS C. and SKOCIL V. (1973). Isolation of limax amoebae from the nasal mucosa of man. Folia Parasitologica (Praha), **20**: 97-103.
- CERVA, L. and HULDT, G. (1974). Limax amoebae in five swimming pool in Stockholm. Folia Parasitologica (Praha), **21**: 71-75.
- CHABAUD, A.G. and CHOQUET, M.T. (1953). Nouvel essai de classification des Filaires (super-famille Filarioidea). Ann. Parasitol. Humaine et Comparée, **28** (2): 172-192.

- CHABAUD, A.G. (1978). CIH keys to the nematode parasites of vertebrates. N° 6. Keys to genera of the superfamilies Cosmocercoidea, Seuratoidea, Heterakoidea and Subuluroidea. Commonwealth Agricultural Bureaux (C.A.B.). England.
- CHALMERS, A.J. and PEKKOLA, W. (1918). *Enteromonas hominis* and *Protetramitus testudinis*. J. Trop. Med., 21: 126-133.
- CHATTON, E. (1917). Les *Blastocystis*, stades du cycle évolutif de Flagellés intestinaux. C. R. Soc. Biol., 80: 555-560.
- CHATTON, E. and BRACHON, S. (1936). Le cinétome de l'*Opalina ranarum*, sa continuité génétique et son importance eu égard à l'évolution des appareils ciliaires. C. R. Acad. Sci., 202: 713-716.
- CHEISSIN, E.M. (1965). Taxonomic of Piroplasmae and some peculiarities of their development in the vertebrate and invertebrate hosts. Acta Protozool., 3: 103-109.
- CHEN, G.J. and DESSER, S.S. (1988). The coccidia (Apicomplexa: Eimeriidae) of frogs from Algonquin Park, with descriptions of two new species. Can. J. Zool., 67: 1686-1689.
- CHENG, T.C. (1976). General Parasitology. Ed. Academic Press, Inc., New York. 965 pp.
- CHENG, T.T. (1936). Observations on mitosis in opalinids (Protozoa, Ciliata). I. The behavior and individuality of cromosomes and their significance. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 22: 594-602.
- CHENG, T.T. (1948). Chromosomes in Opalinidae (Protozoa, Ciliata) with special reference to their behavior, morphology, individuality, diploidy, haploidy and their association with nucleoli. J. Morphol., 83: 281-357.
- CHITWOOD, B.G. (1933). Notes on nematode systematics and nomenclature. J. Parasitol., 19: 242.
- CIFERRI, R. and REDAELLI, P. (1938). A new hypothesis on the nature of *Blastocystis*. Mycopathologia, 1: 3-6.
- CIUREA-VAN SAANEM M.L. (1980). L'isolement des amibes libres chez les animaux a sang froid. Sch. Arch. Tierheilk., 122: 653-658.
- CLAPARÈDE, E. and LACHMANN, J. (1858-1861). Etudes sur les infusoires et les rhizopodes. Mem. Inst. Nat. Genévois, 5 (year 1857 -appeared 1858): 1-260; 6 (year 1858 -appeared 1859): 261-482; 7 (dated 1860-1861): 1-291. (Lachmann passed away in 1860).

- COLLIN, B. (1913). Sur un ensemble de Protistes parasites des Batraciens. Arch. Zool. expér., **51** (Notes et Revue): 59.
- COMBES, C. et KNOEPFFLER, L.P. (1965). Sur quelques plathelminthes d'amphibiens et de reptiles de la Sierra de Gredos (Espagne). Vie et Milieu, **16**: 487-495.
- COMBES, C. (1968). Mémoires du Muséum National D'Histoire Naturelle. Nouvelle Série. Série A, Zoologie. Tome LI. Fascicule unique. Paris. Éditions du Muséum.
- COMBES, C. et GERBEAUX, M.T. (1970). Recherches éco-parasitologiques sur l'helminthofaune de *Rana ridibunda perezii* (Amphibien Anoure) dans l'Est des Pyrénées. Vie Milieu, **21** (1): 121-158.
- COMBES, C. et SARROUY, H. (1971). Helminthes de *Rana ridibunda perezii* (Amphibia) dans la région de Soria. Revista Ibérica de Parasitología, **31** (1-2): 115-119.
- COMBES, C. et KNOEPFFLER, L. P. (1972-73). Helminthes parasites de *Rana ridibunda ridibunda* Pallas 1771 sur les rives iraniennes de la Mer Caspienne. Vie Milieu, **23** (2C): 329-334.
- COMBES, C., LEGER, N. et VIDAL, D. (1973). Inventaire des helminthes de *Rana esculenta* (Amphibien Anoure) dans l'île de Corse. Annales de Parasitologie, **48**: 761-766.
- COPELAN, H.F. (1938). The kingdoms of organisms. Q. Rev. Biol., **13**: 383-420.
- CORDERO DEL CAMPILLO, M. y ÁLVAREZ PELLITERO, M.P. (1973). Los parásitos de las truchas en España. An. Fac. Vet. León, **22**: 77.
- CORDERO DEL CAMPILLO, M. CASTAÑÓN-ORDOÑEZ, L. y REGUERA-FEO, A. (1994). Índice catálogo de Zooparásitos ibéricos. 2ª Edición. Universidad de León. 650 pp.
- CORLISS, J.O. (1955). The opalinid infusorians: Flagellates or ciliates?. J. Protozool., **2**: 107-114.
- CORLISS, J.O. (1960). Comments on the systematics and phylogeny of the protozoa. Syst. Zool., **8** (year 1959): 169-190.
- CORLISS, J.O. (1961). The ciliated protozoa. Characterization, classification and guide to the literature. Ed. Pergamond Press, London and New York. 310 pp.
- CORLISS, J.O. (1962). Taxonomic procedures in classification of protozoa. Symp. Soc. Gen. Microbiol., **12**: 37-67.

CORLISS, J.O. (1962). Taxonomic-nomenclatural practices in protozoology and the new International Code of Zoological Nomenclature. J. Protozool., 9: 307-324.

CORLISS, J.O. (1968). The value of ontogenetic data in reconstructing protozoan phylogenies. Trans. Amer. Micros. Soc., 87: 1-20.

CORLISS, J.O. (1968). Definition and classification. In Infectious blood disease of man and animals. D. Weinman and M. Ristic, eds.), Academic Press, New York. Vol. 1: 139-147.

CORLISS, J.O. (1974). The changing world of ciliate systematics: historical analysis of past efforts and a newly proposed phylogenetic scheme of classification for the protistan phylum Ciliophora. Syst. Zool., 23: 91-138.

CORLISS, J.O. (1979). The ciliated protozoa. Characterization, classification and guide to the literature. Second Edition. Ed. Pergamond Press, Ltd. 455 pp.

CORLISS, J.O. (1992). Should there be a separate code of nomenclature for the protists?. Bio Systems, 28: 1-14.

COX, F.E.G. (1993). Parasitic protozoa. Second Edition. Vol. 1. Chapter 2: Systematics of Parasitic Protozoa. Ed. Kreier J. P. and Baker, J. R. Academic Press, INC. U.S.A.

DA CUNHA, X. (1950). Trichodina ranæ n. sp., un urcéolaire parasite de la vessie urinaire de la Grenouille. Ed. Coimbra Editora, L. da. Coimbra.

DAWES (1968). The Trematoda. Ed. the syndic of the Cambridge University Press.

DE ACOSTA, J. (1947). Trabajos del Instituto de Ciencias Naturales. Serie Biológica. Tomo I. Núm. 3. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Ed. Talleres Gráficos Montaña. 422 pp.

DEFLANDRE, G. (1953). Ordres des Testacealobosa, Testaceafilosa, Thalamia ou Thécamoebiens (Rhizopoda Testacea). In: Traité de Zoologie. Vol. 1, part 2 (Grassé, P.-P., ed.), pp. 97-148. Paris: Masson et Cie.

DELPHIN, F., KYI, K. and OO, K.M. (1972). A preliminary report on Burmese protociliates. Union Burma J. Life Sci., 5: 235-250.

DELVINQUIER, B.L.J (1987). Opalinidae in Australian Anura. Proc. R. Soc. Qd., 98: 93-120.

DELVINQUIER, B.L.J (1988). On some Nyctotheridae of the Australian Anura with a description of *Nyctotheroides raffae* n. sp.. Proc. R. Soc. Qd., 99: 21-34.

- DELVINQUIER, B.L.J and FREELAND, W.J. (1988). Protozoan parasites of the cane toad, *Bufo marinus* in Australia. Austral. Jour. Zool., **36**: 301-316.
- DELVINQUIER, B.L.J and JONES, M.K. (1988). A preliminary note on the intestinal flagellates of the Australian anura. Memoirs of the Queensland Museum, **25** (2): 333-334.
- DELVINQUIER, B.L.J (1989). On some trypanosomes of the Australian anura. Proc. R. Soc. Qd., **100**: 79-87.
- DELVINQUIER, B.L.J., MARKUS, M. B., PASSMORE, N.I. (1991). A preliminary note on the intestinal flagellates of the Southern african anura. Memoirs of the Queensland Museum, **30** (3): 432.
- DELVINQUIER, B.L.J., MARKUS, M. B., PASSMORE, N.I. (1991). Opalinidae in African Anura. I. Genus *Opalina*. Systematic Parasitology, **19**: 119-146.
- DELVINQUIER, B.L.J., MARKUS, M. B., PASSMORE, N.I. (1991). Opalinidae in African Anura. II. Genus *Protozelleriella* and *Zelleriella*. Systematic Parasitology, **19**: 159-185.
- DELVINQUIER, B.L.J., MARKUS, M. B., PASSMORE, N.I. (1993). Opalinidae in African Anura. III. Genus *Cepedea*. Systematic Parasitology, **24**: 53-80.
- DELVINQUIER, B.L.J., MARKUS, M. B., PASSMORE, N.I. (1995). Opalinidae in African Anura. IV. Genus *Protoopalina*. Systematic Parasitology, **30**: 81-120.
- DELVINQUIER, B.L.J., DESSER, S.S. and JOHNSON, J. (1995). Opalinidae (Sarcostomastigophora) in North American Amphibia. Genus *Protoopalina* Metcalf, 1918. Systematic Parasitology, **32**: 141-147.
- DELVINQUIER, B.L.J., PATTERSON, D.J. (1993). Parasitic protozoa. Second Edition. Vol. 3. Chapter 5: The Opalines. Ed. Kreier J. P. and Baker, J. R. Academic Press, INC. U.S.A.
- DELVINQUIER, B.L.J., DESSER, S.S. (1996). Opalinidae (Sarcostomastigophora) in North American Amphibia. Genus *Opalina* Purkinje & Valentin, 1835. Systematic Parasitology, **33**: 33-51.
- DELVINQUIER, B.L.J., MARINKELLE, C.J. (1996). Opalinidae (Slopalinida) in South American Amphibia. Genus *Opalina* Purkinje & Valentin, 1835 in Colombia. Systematic Parasitology, **34**: 27-35.

- DERR-HARF C., MOLET B., SCHREIBER J. and KREMER M. (1978). Epidémiologie des Amibes libres dans les eaux de Strasbourg. Annales de Parasitologie humaine et comparée (Paris), **53**: 467-477.
- DESORTES, C. (1941). Nouvelles recherches sur la morphologie et sur l'évolution d'*Icosiella neglecta* (Diesing, 1851), Filaire commune de la grenouille verte. Annales de Parasitologie humaine et comparée, **18** (1-3): 46-66.
- DESORTES, C. (1942). *Forcipomya velox* Winn. et *Sycorax silacea* Curtis, vecteurs d'*Icosiella neglecta* (Diesing, 1851), Filaire commune de la grenouille verte. Annales de Parasitologie humaine et comparée, **19** (1-3): 53-68.
- DESSER, S.S., MC IVER, S.B. and RYCKMAN, A. (1973). *Culex territans* as a potential vector of *Trypanosoma rotatorium*. I. Development of the flagellate in the mosquito. J. Parasit., **59**: 353-358.
- DESSER, S.S. (1976). The ultrastructure of the epimastigote stages of *Trypanosoma rotatorium* in the leech *Batrachobdella picta*. Canadian Journal of Zoology, **54** (10): 1712-1723.
- DESSER, S.S. and JONES, S. (1985). *Hexamita intestinalis* Dujardin in the blood of frogs from Southern and Central Ontario. J. Parasit., **71** (6): 841.
- DESSER, S.S. and BARTA, J.R. (1985). An intraerythrocytic virus and rickettsia of frogs from Algonquin Park, Ontario. Can. J. Zool., **62**: 1521-1524.
- DESSER, S.S. and YEKUTIEL, D. (1986/87). Blood parasites of amphibians and reptiles in Israel. Israel Journal of Zoology, **34**: 77-90.
- DESSER, S.S. (1987). *Aegyptianella ranarum* sp. n. (Rickettsiales, Anaplasmataceae): ultrastructure and prevalence in frogs from Ontario. Journal of Wildlife Diseases, **23** (1): 52-59.
- DESSER, S.S. and BARTA, J.R. (1989). The morphological features of *Aegyptianella bacterifera*: an intraerythrocytic rickettsia of frogs from Corsica. Journal of Wildlife Diseases, **25** (3): 313-318.
- DESSER, S.S., SIDDALL, M.E. and BARTA, J.R. (1990). Ultrastructural observations on the developmental stages of *Lankesterella minima* (Apicomplexa) in experimentally infected *Rana catesbeiana* tadpoles. J. Parasitol., **76** (1): 97-103.
- DESSER, S.S. (1993). Parasitic Protozoa. Vol. 4. Chapter 4 The Haemogregarinidae and Lankesterellidae. Ed. Academic Press. Inc. 247-271.

- DESSER, S.S., HONG, H., SIDDALL, M.E. and BARTA, J.R. (1993). An ultrastructural study of *Brugerolleia algonquinensis* gen. nov., sp. nov. (Diplomonadina; Diplomonadida), a flagellate parasite in the blood of frogs from Ontario, Canada. European Journal of Protistology, **29**: 72-80.
- DIAMOND, L.S. (1958). A study of the morphology, biology and taxonomy of the trypanosomes of Anura. Doctoral thesis, University of Minesota, U.S.A.
- DIAMOND, L.S. (1965). Trypanosomes of Anura. Wild life Dis., **44**: 1-77.
- DIESING, C.M. (1851). Systema helminthum. Vildobonae, 2: 588 pp.
- DOBELL, C. (1908). Some remarks upon the autogamy of *Bodo lacertae*. Biol. Centralbl., **28**: 548.
- DOBELL, C. (1909). Researches on the intestinal protozoa of frog and toad Quart. J. Sci., **53**: 201-278.
- DOBELL, C. (1912). Researches on the spirochaetes and related organisms. Arch. Protistenkunde, **26**: 117-240.
- DOBELL, C. (1914). Cytological studies on three species of *Amoeba*: *A. lacertae* Hartmann, *A. glebae* n. sp., *A. fluvialis* n. sp.. Arch. Protistenkunde, **34**: 139.
- DOBELL, C. and O'CONNOR (1921). The intestinal protozoa of man. Ed. Jhon Bale fils et Danielson, Ltd, Londres.
- DOBELL, C. (1932). Antony van Leeuwenhoek and his 'little animals'. Ed. Jhon Bale, Sons and Danielson, Londres.
- DOBROVOLSKI, A. (1965). Über die Einheitlichkeit des Bauplanes von Mirazidien der überfamilie Plagiorchioidea. Angew. Par., **6** (3): 157-165.
- DOFLEIN, F. (1901). Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger nach biologischen Gesichtspunkten dargestellt. G. Fischer, Jena. 274 pp. (Subsequently considered as the 1st edition of Doflein's, and then Doflein & Reichenow's, Lehrbuch der Protozoenkunde).
- DOFLEIN, F. (1902). Das System der Protozoen. Arch. Protistenk., **1**: 169-192.
- DOFLEIN, F. (1909). Lehrbuch der Protozoenkunde. 2nd ed. G. Fischer, Jena. 914 pp.
- DOFLEIN, F. (1911). Lehrbuch der Protozoenkunde. 3rd ed. G. Fischer, Jena. 1043 pp.
- DOFLEIN, F. (1916). Lehrbuch der Protozoenkunde. 4th ed. G. Fischer, Jena. 1190 pp.

- DOFLEIN, F. und REICHENOW, E. (1928). Lehrbuch der Protozoenkunde. Ed. Jena. Germany.
- DOLLFUS, R. (1963). Trematodes Digenea adultes chez des Batraciens, Reptiles, Oiseaux. Annales de Parasitologie (Paris), **38** (1): 29-61.
- DOGIEL, V.A. (1940). On the classification of the genus *Trichodina*. Trudy Len. Obsh. Iest., **68**: 8-31.
- DOGIEL, V.A. (1948). Parasitic protozoa of fish. 3. Ciliates of the genus *Trichodina*. Izv. Vses. Naut. Inst. Oziern. Rechn. Choz., **27**: 44-66.
- DSCHUNKOWSKY, E. and LUHS, J. (1909). To the question of the study of protozoan illness in fowl in Transcaucasia. Proc. Int. Vet. Congr., **9th**, 1909: 18-19.
- DSCHUNKOWSKY, E. (1937). Pregled radova o Balfourovim granulama u vezi sa novim nazivima ovog parazita (*Aegyptianella* Carpano – *Balfouria* mihi). Jugosl. Vet. Glasn., **17**: 315-321.
- DSCHUNKOWSKY, E. (1937). Balfoursche Granula als echte Geflügelparasiten, ihre Natur und Stellung in der Systematik: *Aegyptianella pullorum* Carpano *Balfouria* n. genus, *Balfouria anserina* n. sp. und *Balfouria gallinarum* n. sp.. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr., Abt. 1 Orig., **140**: 131-136.
- DUELLMAN, W.E. and TRUEB, L. (1986). Biology of amphibians. Ed. McGraw-Hill Book Company, New York, U.S.A.
- DUFOUR, L. (1828). Note sur la grégarine, nouveau genre de ver qui vit en troupeau dans les intestines de divers insectes. Ann. Sci. Nat., **13**: 366-368.
- DUNN, L.A., BOREHAMM., P.F.L. and STENZELL, D.J. (1989). Ultrastructural variation of *Blastocystis hominis* stocks in culture. J. Parasitol., **19**: 43-56.
- DUJARDIN, F. (1841). Histoire Naturelle des Zoophytes. Infusoires. Paris, 16: 678 pp.
- DUJARDIN, F. (1845). Histoire naturelle des Helminthes ou vers intestinaux. Paris. 654 pp.
- DURETTE-DESSET, M.C. (1984). Techniques de récolte, de fixation et de conservation des nématodes parasites de vertébrés. Systematic Parasitology, **6** (4): 248.
- DUTTON, J.E., TODD, J.L. and TOBEY, E.N. (1907). Concerning certain parasitic Protozoa observed in Africa. Ann. Trop. Med. Parasitol., **1**: 287-370.

EARL, P.R. (1971). *Hegneriella dobelli* gen. n., sp. n., (Opalinidae) from *Bufo valliceps* and some remarks on the sistematic position of the Opalinidae. Acta Protozoology, 9: 41-48.

EARL, P.R. (1972). Synopsis of the Plagiotomoidea, new superfamily (Protozoa). Acta Protozoology, 9: 247-261.

EARL, P.R. (1973). Supressions and other taxonomic changes in the Protozoan subphylum Opalinida. Publicaciones biológicas Instituto de Investigaciones Científicas, 1 (3): 25-43.

EARL, P.R. (1979). Notes on the taxonomy of the opalinids (Protozoa), including remarks on continental drift. Trans. Am. Microsc. Soc., 98: 549-557.

EHRENBERG, C.G. (1830). Organisation, systematik und geographisches verhältniss der Infusionsthierchen. Königlichten Akademie der Wissenschaften, Berlin.

EHRENBERG, C.G. (1832). Über die Entwicklung und Lebensdauer der Infusionsthiere; nebst fernerem Beiträgen zu einer Vergleichung ihrer organischen Systeme. Phys. Abh. K. Akad. Wiss. zu Berlin (A.d.j. 1831), 1-154.

EHRENBERG, C.G. (1838). Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen: Ein Blick in das tiefere organische Leben der Natur. Leopold Voss, Leipzig.

EIMER, T. (1870). Ueber die ei- und kugelförmigen sogenannten Psorospermien der Wirbeltiere. Würzburg.

ENGELMANN, T.W. (1876). Ueber Entwicklung und Fortpflanzung von Infusorien. Morphologisches Jahrbuch, 1: 573-635.

ESCOMEL, E. (1925). A propos de quelques flagellés de reptiles et de batraciens observés à Arequipa, Pérou. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 18: 58-61.

FAGERHOLM, M.P. (1979). Nematode length and preservatives, with a method for determining the length of live specimens. Jour. Parasitol., 65 (2): 334-335.

FAGERHOLM, M.P. and LOVDAHL, M. (1984). Induced morphometric variation in the preparation of nematode parasites for the L.M. and S.E.M.. Systematic Parasitology, 6 (4): 245-247.

FANTHAM, H.B., PORTER, A. and RICHARDSON, L.R. (1942). Some haematozoa observed in vertebrates in eastern. Canada Parasitology, 34: 199-226.

FAURÉ-FREMIET, E. (1943). Etude biométrique de quelques trichodines. Bull. Soc. Zool. France, 68: 158-169.

- FAURÉ-FREMIET, E. and MUGAR, H. (1946). Sur un infusoire holotriche histiophage *Deltopylum rhabdoides*, n. gen., n. sp.. Bull. Soc. Zool. France, **71**: 161-164.
- FAURÉ-FREMIET, E. (1950). Morphologie comparée et systématique des ciliés. Bull. Soc. Zool. France, **75**: 109-122.
- FAURÉ-FREMIET, E. (1950). Morphologie comparée des ciliés holotriches trichostomes. An. Acad. Bras. Cienc., **22**: 257-261.
- FAURÉ-FREMIET, E. (1952). La diversification structurale des ciliés. Bull. Soc. Zool. France, **77**: 274-281.
- FAURÉ-FREMIET, E. (1955). La position systématique du genre *Balantidium*. J. Protozool., **2**: 54-58.
- FAVARD, P. CARASSO, N. and FAURÉ-FREMIET, E. (1963). Ultrastructure de l'appareil adhésif des urcéolaires (ciliés pérित्रiches). J. Micros., **2**: 337-368.
- FEELY, D.N. and ERLANDSEN, S.L. (1985). Morphology of *Giardia agilis*: Observation by scanning electron microscopy and inference reflexion microscopy. J. Protozool., **32** (4): 621-693.
- FERNÁNDEZ, P. (1984). Contribución al conocimiento de la helmintofauna del género *Bufo*. Tesis de Licenciatura.
- FERNANDES, J.C. (1958). Notas sobre algumas especies do genero *Gorgoderina* Looss, 1902 (Gorgoderidae). M.I.O.C., **56** (1): 1-15.
- FERNÁNDEZ-GALIANO, D. (1947). Observaciones citológicas sobre las opalinas. Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (Biol.), **1** (3): 353-422.
- FERNÁNDEZ-GALIANO, D. (1951). *Balantidium galianoi*, una nueva especie parásita del intestino del gallipato (Molge (Pleurodeles) *Waltlii michah*). Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (Biol.), **4**: 115-149.
- FERNÁNDEZ-GALIANO, D. (1952). Los sistemas fibrilares de las especies del género *Balantidium*. I. *Balantidium elongatum*. Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (Biol.), **4**: 1-36.
- FERNÁNDEZ-GALIANO, D. (1955). Los sistemas fibrilares de las especies del género *Balantidium*. II. *Balantidium entozoon* y *Balantidium galianoi*. Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (Biol.), **4**: 69-90.

- FERNÁNDEZ-GALIANO, D. (1964). Una nueva clasificación de los protozoos. Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (Biol.), 62: 235-245.
- FERNÁNDEZ-GALIANO, D. (1971). Filogenia de los protozoos. Actas I Simp. Int. Zoofilog. (Salamanca, 13-17 octubre 1969): 119-130.
- FERNÁNDEZ-GALIANO, D. (1978). La position systématique de *Bursaria truncatella*. Un nouveau Ordre des Ciliés. J. Protozool., 25: 54A.
- FERNÁNDEZ-GALIANO, D. (1979). Transfer of the widely known spirotrich ciliate *Bursaria truncatella* O. F. M. to the Vestibulifera as a separate Order there, The Bursariomorphida. Trans. Amer. Micr. Soc., 98: 447-454.
- FERNÁNDEZ-GALIANO, D. (1980). Comentarios sobre una reciente clasificación de los protozoos. Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (Biol.), 78: 245-262.
- FERNÁNDEZ-GALIANO, E. (1921). Morfología y Biología de los Protozoos. Ed. Calpe, Madrid. 266 pp.
- FILICE, F.P. (1952). Studies on the cytology and life history of a *Giardia* from the laboratory rat. Univ. Calif. Publ. Zool., 57: 53-146.
- FRANÇA, C. and ATHIAS, M. (1906). Recherches sur les trypanosomes des amphibiens. I. Les trypanosomes de *Rana esculenta*. Archives de L'Institut de Bacteriologie, 1: 127-165, pls: 1-3.
- FRANÇA, C. (1915). Le *Trypanosoma inopinatum*. Arch. Protistenkd., 36: 1-12.
- FRANKE E.D. and MACKIEWICZ J.S. (1982). Isolation of *Acanthamoeba* and *Naegleria* from the intestinal contents of freshwater fishes and their potential pathogenicity. Journal of Parasitology, 68: 164-166.
- FOWLER, M. and CARTER, R.F. (1965). Acute pyrogenic meningitis probably due to *Acanthamoeba* sp. Brit. Med. J., 2: 742-742.
- FRANK W. (1974). Limax-Amoebae from cold-blooded vertebrates. Ann. Soc. Belge Med. Trop., 54: 343-349.
- FULLEBORN, F. (1928). Ueber den Infektionsweg bei *Rhabdias bufonis* (*Rhabdonema nigrovenosum*) des Frosches nebst Versuchen über die Lymphzirkulation des letzteren. Z. Bakt. Parasit. Inf. Krank., 109: 444-462.
- FULTON C. (1977). Cell differentiation in *Naegleria gruberi*. Annual Review of Microbiology, 31: 597-629.

FULTON C. (1983). Macromolecular synthesis during the quick-change act of *Naegleria*. Journal of Protozoology, **30**: 192-198.

FULTON J. F., Jr. (1923). *Trichodina pediculus* and a new closely related species. Proc. Boston Soc. Nat. Hist., **37**: 1-29.

GÄBEL, M. (1914). Zur Pathogenität der Flagellaten. Ein Fall von Tetramitider-diarrhoe. Arch. Protistenk., **34**: 1-34.

GABEL, J.R. (1954). The morphology and taxonomy of the intestinal protozoa of the American Woodchuck, *Marmota monax* Linneaus. J. Morph., **94**: 473-550.

GALEANO, M., NAVARRO, P., HUGUET, E. y LLUCH, J. (1991). Nuevas aportaciones al conocimiento de la helmintofauna de los herpetos ibéricos. Endoparásitos de herpetos del Sistema Ibérico español. I Cong. Int. Asoc. Sudoccid. Europ. Parasitol.: 53.

GARCÍA-PARIS, M. (1985). Los anfibios de España. Edi. Publicaciones de Extensión Agraria, Madrid, España. 287 pp.

GEIMAN, Q.M. (1932). The intestinal protozoa of the larvae of the crane-fly, *Tipula abdominalis*. Jour. Parasitology, **19**: 173.

GEIMAN, W.M. (1935). Cytological studies of the *Chilomastix* (Protozoa, Flagellata) of man and other mammals. Journal of Morphology, **57**: 429-459.

GEIMAN, Q.M. and RATCLIFFE H.L. (1936). Morphology and life-cycle of an amoeba producing amoebiasis in reptiles. Parasitology, **28**: 208.

GEITSMANN (1913). Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Spirochäten (Borrelien). Zentralbl. Bakteriol., Parasitenkd. Infektionskr., Abt. 1 Orig., **68**: 31-49 und **70**: 186-187.

GIBSON, D.I. (1984). Technology as applied to museum collections: the collection, fixation and conservation of helminths. Systematic Parasitology, **6** (4): 241-255.

GOLDFUSS, G.A. (1817). Ueber die Entwicklungsstufen des Thieres. Leonard Schrag, Nürnberg.

GONZÁLEZ CASTRO, J. (1942). Descripción de una variedad de *Gorgoderia circava* (Guberlet, 1920) en la vejiga urinaria de la *Rana esculenta* en Granada. Revista Ibérica de Parasitología, **2**: 310.

GOTHE R. AND KREIER J.P. (1977). Parasitic protozoa. Vol. 4. Chapter 8: *Aegyptianella*, *Eperythrozoon* and *Haemobartonella*. Ed. Kreier J. P. Academic Press, INC. New York. 251-294.

GRABDA-KAZUBSKA B. (1967). Morphological variability of adult *Ophisthioglyphes ranae*. Acta. Par. Pol., **15** (1-21): 15-34.

GRAIN, J. (1966). Confirmation, par la microscopie électronique, de la place des *Balantidium* dans l'ordre des Trichostomatida. Compt. Rend. Acad. Sci., **263**: 1864-1867.

GRASSÉ, P.P. (1925). Kystes de *Prowazekella* et *Blastocystis*. C. R. Ac. Sc., **180**: 697.

GRASSÉ, P.P. (1928). Sur quelques *Nyctotherus* (infusoires hétérotriches) nouveaux ou peu connus. Ann. Protistol., **1**: 55-68.

GRASSÉ, P.P. (1926). Contribution a l'étude des flagellés parasites. Archives de Zoologie Experimentale et Générale, **65**: 345-602.

GRASSÉ, P.P. and HOLLANDE, A. (1950). Recherches sur les flagellés termiticoles. Les sous-familles des Descoviniinae Kirby et des Macrotrichomonadinae nov. Ann. Sci. Nat. Zool., **11**, **12**: 25-64.

GRASSÉ, P.P. (1952-1953). Traité de Zoologie. Anatomie; Systematique; Biologie. T. I, Fasc. I y II. Masson & Cie, Paris.

GRASSÉ, P.P. (1961). Traité de Zoologie. Anatomie; Systematique; Biologie. Tomo IV. Premier fascicule. Ed. Masson & Cie, Paris.

GRASSÉ, P.P. (1965). Traité de zoologie. Némathelminthes, Rotiferes. Tomo IV. Fas. II et III. Ed. Masson & Cie, Paris.

GRASSI, B. (1888). Morfologia e sistematica di alcuni Protozoi parassiti. Atti Acc. Pontif. Lincei, Rendiconti, **4**: 5-12.

GRELL, K. G. (1956). Naegleria gruberi: Nahrungsaufnahme und Fortpflanzung E1170. (Encyclopedia Cinematographica) (film).

GRELL, K. G. (1967). Protozoologie. Julius Springer, Berlín.

GRELL, K. G. (1973). Protozoology. Julius Springer, Berlín: 290-291.

GRILLOT R. and AMBROISE-THOMAS P. (1981). Etude comparative du pouvoir pathogène des Amibes libres chez les souris et de leur effect cytopathogène in vitro. Soc. Biol. Fil., **175**: 187-193.

GRIM, J.N. (1993). Description of somatic kinetics and vestibular organization of *Balantidium jocularum* sp. n., and possible taxonomic implications for the class Litostomatea and the genus *Balantidium*. Acta Protozoologica, **32**: 37-45.

GRUBY, D. (1843). Recherches et observations sur une nouvelle espece d'hématozoaire, *Trypanosoma sanguinis*. C. r. hebdomadaire. Seances Acad. Sci., **17**: 1134-1136.

GUINEA, A., ANADÓN, R. and FERNÁNDEZ-GALIANO, D. (1992). Light and electron microscopic study of *Balantidium* entozoon (Ciliophora, Vestibuliferida): somatic cortex and vestibular cavity. Archiv für Protistenkunde, **142**: 41-50.

HAECKEL, E. (1866). Generelle Morphologie der Organismen. 2 vols. G. Reimer. Berlin. 462 pp.

HAECKEL, E. (1878). Das Protistenreich. Guther, Leipzig.

HAKE, T. (1839). Treaties on varicose capillaris, as Constituted of carcin of the hepatic ducts. With an account of a new form of pus globule. London.

HALL, R.P. (1953). Protozoology. Prentice-Hall, New York.

HAMMOND, D.M. (1985). The coccidia. Chapter 3. Life cycle and development of coccidia. Edited by Hammond, D.M. and Long P.L. University Park Press. Baltimore and Butterworth and Co. (Publishers) Ltd., London.

HARTMANN, M. (1923). Sporozoa: Amöbosporidia und Gregarina-Coccidia. In Kukenthal, W. and T. Krumbach, eds. Handbuch der Zoologie. De Gruyter, Berlin, **1**: 186-255.

HARTOG, M. (1906). Protozoa. In Harmer, S. F. and Shipley, A. E., eds., The Cambridge Natural History, Macmillan, London, **1**: 1-162.

HARWOOD, P.D. (1932). The helminths parasitic in the amphibia and reptilia of Houston, Texas, and vicinity. Proc. U. S. Nat. Mus., **81** (17): 1-71.

HEGNER, R.W. (1921). *Cytamoeba bacterifera* in the red blood cells of the frog. J. Parasitol., **7**: 157-161.

HEGNER, R.W. (1922). The systematic relationship of *Giardia lamblia* Stiles, 1915, from man and *Giardia agilis* Kunstler, 1882 from the tadpoles. Am. J. Hyg., **2**: 435-441.

HEGNER, R.W. (1926). The biology of host-parasite relationship among protozoa living in man. Quarterly Review of Biology, **1**: 393-418.

- HIRSHFIELD, H.I. (1949). The morphology of *Urceolaria karyolobia* sp. nov., *Trichodina tegula*, sp. nov., and *Scyphidia ubiquita* sp. nov., three new ciliates from Southern California limpets and turbans. J. Morph., **85**: 1-33.
- HOLLEBEKE, N.L. and MAYBERRY, L. F. (1994). Taxonomic uncertainty and *Blastocystis* (Protista: Sarcodina). Parasitology Today, **10** (2): 64.
- HONIGBERG, B.M. (1951). Structure and morphogenesis of *Trichomonas prowazeki* Alexeieff and *Trichomonas brumpti* Alexeieff. Univ. Calif. Publ. Zool., **55**: 337-394.
- HONIGBERG, B.M. and DAVENPORT, H.A. (1954). Staining flagellate protozoa by various silver-protein compounds. Stain Techn., **29**: 241-246.
- HONIGBERG, B.M. (1957). Evolutionary and systematic relationships in the order Trichomonadida. Journal Protozoology, **4** (Suppl.): 5-6.
- HONIGBERG, B.M. (1963). Evolutionary and systematic relationships in the flagellate order Trichomonadida Kirby. Journal Protozoology, **10** (1): 20-63.
- HONIGBERG, B.M. and BALAMUTH, W., (1963). Subfylum Sarcomastigophora nom. nov. to embrace the flagellate and amoeboid assemblages of protozoans (Abstr.) Journal Protozool., **10** (Suppl.): 27.
- HONIGBERG, B.M., BALAMUTH, W., BOVEE, E.C., CORLISS, J.O., GOJDICS, M., HALL, R.P., KUDO, R.R., LEVINE, N.D., LOEBLICH, A.R., WEISER, J. and WENRICH, D.H. (The Committee on Taxonomy and Taxonomic Problems of the Society of Protozoologists) (1964). A revised classification of the phylum Protozoa. Journal Protozool., **11** (1): 7-20.
- HONIGBERG, B.M. and KULDOVA, J. (1969). Structure of non-pathogenic histomonad from caecum of galliform birds and revision of the Trichomonadidae Kirby. Journal Protozoology, **16** (3): 526-535.
- HONIGBERG, B.M. VICKERMAN, K., KULDA, J. and BRUGEROLLE, G. (1981). Cytology and taxonomy of parasitic flagellates. Review of advances in Parasitology. Polish scientific Publish. 205-227.
- HORNING, E.S. (1925). The Mitochondria of a protozoan (*Opalina*) and their behaviour during the life cycle. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., **2**: 167-171.
- INGLES, L.G. (1932). Four new species of *Haematoloechus* from *Rana aurora draytoni* from California. Univ. Calif. Publ. Zool., **37** (7): 189-202.

INOKE, S. and OZEKI, Y. (1969). Electrón microscopic observation on division of kinetoplasts in *Trypanosoma gambiense*. Biken J., 12: 31-41.

IZQUIERDO-GÓMEZ, S. (1987). Contribución al conocimiento de los helmintos parásitos de herpetos de la provincia de Alicante. Tesis de Licenciatura. Universidad de Valencia.

JAHN, T.L. and JAHN, F.F. (1949). How to know the protozoa. Ed. W. C. Brown Company Publishers. U.S.A. 279 pp.

JAHN, T.L. BOVEE, E.C and JAHN, F.F. (1979). How to know the protozoa. Second Edition. Ed. W. C. Brown Company Publishers. U.S.A. 279 pp.

JAMES, W.M. (1904). A study on the Entamoeba of man in the Panama Canal zone. Annals. Trop. Med. a. Parasit., 8: 113.

JANKOWSKA S. and NIGRELLI R.F. (1955). A taxonomic re-evaluation of *Dactylosoma* Labbé, 1894, a babesioid of cold blooded vertebrates. Journal of Protozoology, 2 (Supp): 8.

JANKOWSKA S. and NIGRELLI R.F. (1956). *Babesiosoma* gen. nov. and other babesioids in erythrocytes of cold-blooded vertebrates. Annals of the New York Academy of Sciences, 64: 112-127.

JANKOWSKI A.W. (1967). A new system of ciliate Protozoa (Ciliophora). Akad. Nauk SSSR, Trudy Zool. Inst., 43: 3-54.

JEPPS AND DOBELL (1918). *Dientamoeba fragilis* n. g., s. sp. a new intestinal *Amoeba* from man. Parasitology, 10: 352.

JIANG, J.B. and HE, J.G. (1993). Taxonomic status of *Blastocystis hominis*. Parasitology Today, 9 (1): 2-3.

JIMÉNEZ, J.M. y GARCÍA-MAS, I. (1981). El género *Batrachobdella* Viguier, 1879, en la Península Ibérica (Hirudinea, Glossiphoniidae). Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (Biol.), 79: 265-271.

JOHN, D.T., (1993). Parasitic protozoa. Second Edition. Vol. 3. Chapter 5: The Opalines. Ed. Kreier J. P. and Baker, J. R. Academic Press, INC. U.S.A.

JOHNSON, A.M., THANOU, A., BOREHAM P.F.L. and BAVERSTOCK, P.R. (1989). *Blastocystis hominis*: phylogenetic affinities determined by rRNA sequence comparison. Exp. Parasitol., 68: 283-288.

- JOHNSTON, S.J. (1912). On some trematodes of Australian frogs. Ibidem, 37 (2): 285-362.
- JONES, S.R.M., WOO, P.T.K. (1986). Trypanosoma chattoni Mathis and Leger, 1911 in Rana pipiens of southern Ontario: morphometrics and a description of the division process. Systematic Parasitology, 9: 57-62.
- KADLEC V. (1975). Améby skupiny limax u některých hospodářských a domácích zvířat. Veterinární Medicína, 20: 321-326.
- KADLEC V. (1978). The occurrence of amphizoic amebae in domestic animal. J. Protozool., 25: 235-237.
- KAHL, A. (1930-1935). Urtiere oder Protozoa. I: Wimpertiere oder Ciliata (Infusoria), eine Bearbeitung der freilebenden und ectocommensalen Infusorien der Erde, unter Ausschluss der marinen Tintinnidae. In Dahl, F., ed., Die Tierwelt Deutschlands, G. Fischer, Jena, parts 18 (year 1930), 21 (1931), 25 (1932), 30 (1935): 886 pp.
- KACZANOWSKI, A. (1971). *Opalina ranarum* Purkinje et Valentin meiosis and dimorphism of nuclear behavior during meiosis. Acta Protozool., 9: 105-106.
- KAZUBSKI, S.L. (1979). *Trichodina vesicularum* Fauré-Fremiet, 1943 and *T. faurefremietii* nom. nov. (Ciliata, Peritrichida) – parasites of Newts of the genus *Triturus*. Acta Protozoological, 18: 371-384.
- KAZUBSKI, S.L. (1980). *Trichodina ranae* da Cunha, 1950 (Ciliata, Peritrichida), a Parasite of *Rana esculenta* s. l. and its morphological variability. Acta Protozoological, 19 (3): 207-224.
- KENNEDY, M.J. (1981). A revision of species of the genus *Haematoloechus* Looss, 1899 (Trematoda: Haematoloechidae) from Canada and the United States. Canadian Journal of Zoology, 59 (9): 1836-1846.
- KENNEY, M.J. (1971). The microo-Kolmer complement fixation test in routine screening for soil ameba infection. Health Lab. Sci., 8: 5-10.
- KENT, W.S. (1880-1882). A manual of the Infusoria Vols. 1-3. David Bogue, London. 913 pp.
- KIRBY, H. (1931). The structure and reproduction of the parabasal body in trichomonad flagellates. Trans. Am. Microscop. Soc., 50: 189-195.
- KIRBY, H. (1947). Flagellate and host relationships of trichomonad flagellates. J. Parasitol., 33: 214-228.

- KIM, K.H., JOO, K.H. and RIM, H.J. (1995). Gorgoderid trematodes (Digenea: Gorgoderidae) from the urinary bladders of frog in Korea. Korean Journal of Parasitology, **33** (2): 75-83.
- KIRBY, H. and HONIGBERG, B. (1949). Flagellate of the caecum of ground squirrels. Univ. Calif. Publ. Zool., **53**: 315-366.
- KIRBY, H. and HONIGBERG, B. (1950). Intestinal flagellate from a Wallaroo *Macropus robustus* Gould. Univ. Calif. Publ. Zool., **55**: 35-66.
- KNOWLES, R., DAS GUPTA, B.M. and BASU, B.C. (1927). Preliminary observations on the morphology and life history of *Spirochaeta anserina*. Far East Assoc. Trop. Med., Trans. Congr., 7th, 1927, **2**: 573-581.
- KNOWLES, R., DAS GUPTA, B.M. and BASU, B.C. (1932). Studies in avian spirochaetosis. Parts I and II. Indian Med. Res. Mem., **22**: 1-113.
- KOFOID, C. A. and SWEZY, O. (1915). Mitosis and multiple fission in trichomonad flagellates. Acad. Arts and Sci., **51**: 287-364.
- KOFOID, C. A., KORNHAUSER and SWEZY, O. (1919). Criteria for distinguishing the *Endamoeba* of amoebiasis from other organisms. Arch. Int. Med., **24**: 35.
- KOFOID, C.A. (1920). A critical review of the nomenclature of human intestinal flagellates, *Cercomonas*, *Chilomastix*, *Trichomonas*, *Tetratrichomonas* and *Giardia*. Univ. Calif. Public. Zool., **20** (6): 145.
- KOFOID, C.A. and SWEZY, O. (1920). On the morphology and mitosis of *Chilomastix mesnili* (Wenyon), a common flagellate of the human intestine. Univ. Calif. Public. Zool., **2**: 117.
- KOMIYA, Y. (1938). Die Entwicklung des Exkretionssystems einiger Trematodenlarven aus Alster und Elbe, nebs Bemerkungen über ihren Entwicklungszyklus. Z. Par., **10** (3): 340-385.
- KONSULOFF, S. (1922). Untersuchungen über *Opalina*. Archiv für Protistenkunde, **44**: 285-345.
- KREIER, J.P. (1978). Parasitic Protozoa. Vol II. Intestinal flagellates, histomonads, trichomonads, amoeba, opalinids and ciliates. Edi. Academic Press, Inc. London. 1-138.
- KRISHNAMURTHY, R. (1968). Studies on the morphology of the monocercomonad flagellates from reptiles in India (III). A review with a key to the species. Rivista di Parasitologia, **29** (4): 233-240.

- KRISHNAMURTHY, R. (1970). Description of a new flagellate (Protozoa: Mastigophora) *Chilomastix quadrii* n. sp. from frog in India. Annls Parasit Hum. Comp., 14: 261-265.
- KRISHNAMURTHY, R. and MADRE, V.E. (1978). Studies on the morphology of three new species of monocercomonad flagellates from amphibians in India. Archiv für Protistenkunde, 121: 64-72.
- KRISHNAMURTHY, R. and SHETE, S.G. (1981). Observations on the rectal flagellates of Indian amphibians. II. Genus Monocercomonas Grassi, 1879. Archiv Parasitenkunde, 124: 398-404.
- KUDO, R.R. (1931). Handbook of Protozoology. Charles C. Thomas - Publisher. Springfield, Illinois, U.S.A.
- KUDO, R.R. (1939). Protozoology. 2nd ed., Charles C. Thomas - Publisher. Springfield, Illinois, U.S.A.
- KUDO, R.R. (1946). Protozoology. 3rd ed., Charles C. Thomas - Publisher. Springfield, Illinois, U.S.A.
- KUDO, R.R. (1954). Protozoology. 4th ed., Charles C. Thomas - Publisher. Springfield, Illinois, U.S.A.
- KUDO, R.R. (1966). Protozoology. 5th ed., Charles C. Thomas - Publisher. Springfield, Illinois, U.S.A.
- KUDO, R.R. and MEGLITSCH, P.A. (1938). On Balantidium praenucleatum n. sp. inhabiting the colon of Blatta orientalis. Archiv für Protistenkunde, 91: 111-126
- KULDA, J. (1959). *Retortamonas boae* n. sp. of *Boa constrictor*. Acta Universitatis Carolinae-Biologica, 1: 37-49.
- KULDA, J. and LOM, J. (1964). Remarks on the diplomastigine flagellates of Illinois. Illinois Biological Monographs, 13: 1-4.
- KULDA, J. and NOHÝNKOVÁ, E. (1978). Parasitic Protozoa. Flagellates of the human intestine and of the intestines of other species. Kreier, J. P., 2: 2-138.
- KUENEN AND SWELLENGREBEL (1913). Die Entamoeben des Menschen und ihre prakt. Bedeutung. Centralbl. für Bakt. Abt. I. Orig., 71: 378.
- LA RUE, G.R. (1957). The classification of Digenetic Trematoda: a review and a New System. Experimental Parasitology, 6: 306-349.

LABBÉ A. (1894). Recherches zoologiques et biologiques sur les parasites endoglobulaires du sang des vertébrés. Archives de Zoologie Expérimentale et Générale, 2 (3): 55-252.

LABBÉ A. (1896). Recherches zoologiques, cytologiques et biologiques sur les coccidies. Archives de Zoologie Expérimentale et Générale, 4 (3): 517-654.

LABBÉ A. (1899). Sporozoa. In: Das Tierreich. Berlin.

LAIRD, M. and LARI, F.A. (1957). The avian blood parasite *Babesia moshkovskii* (Schurenkova, 1938) with a record from *Corvus splendens* Vieillot in Pakistan. Can. J. Zool., 35: 783-795.

LAMBL, W. (1859). Mikroskopische Untersuchungen der Darne-excrete. Prager Vierteljahrsschrift für Praktische Heilkund, 61: 1-58.

LANKESTER, R. (1871). On Undulina, the type of a new group of Infusoria. Quarterly Journal of Microscopical Science, 11: 387-389.

LANKESTER, R. (1885). Protozoa. In: Encyclopedia Britannica.

LANKESTER, R. (1903). A treatise on zoology. Part I, Fasc. 1. Ed. Black, London.

LANKESTER, R. (1909). A treatise on zoology. Part I, Fasc. 2. Ed. Black, London.

LAVERAN, A. (1889). Sur la bacille parasite des hématies de *Rana esculenta*. C. R. Soc. Biol. (Paris), 51: 355-358.

LAVERAN, A. and MESNIL, F. (1902). Sur deux coccidies intestinales de la *Rana esculenta*. C. R. Soc. Biol. (Paris), 54: 857-860.

LAVERAN, A. (1907). In: Balfour, A. (1907). A peculiar blood condition, probably parasitic, in Sudanese fowls.

LAVERAN, A. and MESNIL, F. (1912). Trypanosomes et trypanosomiasés. Masson et Cie, Paris: 861-870.

LAVIER, G. (1935). Sur la propagation et la durée des infections à *Giardia agilis* chez les batraciens. C. R. Soc. Biol. Paris, 120: 21-23.

LAVIER, G. (1936). Sur la structure des Flagellés du genre Hexamita (Dujardin). C. R. Soc. Biol. Paris, 121: 1177-1180.

LAVIER, G. (1937). Sur la cytologie des protistes du genre *Blastocystis*. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris, 105: 340-342.

- LAVIER, G. (1942). Sur une localisation atypique du parasitisme dans le genre *Hexamita*. C. R. Soc. Biol. Paris, **139**: 20-22.
- LAVIER, G. (1943). L'évolution de la morphologie de *Agama colonorum*. Ann. Parasitol. Hum. Comp., **19**: 168-200.
- LAVIER, G. (1952). Observation sur les *Blastocystis*. Ann. Parasitol. Hum. Comp., **27**: 339-356.
- LEE, D.L. (1970). The fine structure of *Blastocystis* from the caecum of turkey. Transactions of the British Mycological Society, **54**: 313-317.
- LEE, J.J. (1989). An illustrated guide to the Protozoa. Order 8. Rhizomastigida Doflein. Ed. Lee, J. J., Hutner, S. H. and Bovee, E. C. Society of Protozoologists. U.S.A. 629 pp.
- LEEDALE (1974). How many are the kindoms of organisms?. Taxon, **32**: 261-270.
- LEEUWENHOEK, A. VAN (1674). More observations from Mr Leewenhooek, in a letter of 7 September 1674, sent to the publisher. Philos. Trans. Roy. Soc., **9**: 178-182.
- LEEUWENHOEK, A. VAN (1683). Letter N° 72, July 16th, 1683. Addressed to Christopher Wren, Royal Society of London. In The collected letters of Antoni van Leeuwenhoek vol. IV (1952) (G. van Rijnberk et al., eds.), Amsterdam, i-ix, 1-384: 53-103.
- LEEUWENHOEK, A. VAN (1688). Letter N° 110, September 7th, 1688. Addressed to Christopher Wren, Royal Society of London. In The collected letters of Antoni van Leeuwenhoek vol. VIII (1967) (J.J. Swart, ed.), Amsterdam, 1-383: 2-57.
- LÉGER, L. (1900). Le genre *Eimeria* et la classification des coccidies. C. R. Soc. Biol., **52**: 576-577.
- LEIDY, J. (1849). *Nyctotherus*, a new genus of Polygastrica allied to *Ploesconia*. Proc. Nat. Acad. Sci. Philadelphia, **4**: 233.
- LENT, H. and FREITAS, J.E. (1941). Estado actual de tres especies do genero *Cephalogonimus* Poirier, 1866 (Trematoda). Mem. Inst. Osw. Cruz, **35** (3): 515-525.
- LEON, W. (1919). *Balantidium haughwouti*, new species, parasitic in the intestinal tract of *Ampullaria* species, a morphological study. Phil. Jour. Sci., **15**: 389-409.
- LEHMANN, D.L. (1959). The cultivation of some trypanosomes from urodeles. J. Protozool., **6** (4): 340-343.

LEUCKART, R. (1862-1876). Die menschlichen Parasiten und die von ihnen herrührenden Krankheiten. 2 vols. Winter, Leipzig.

LEUCKART, R. (1865). Zur Entwicklungsgeschichte des *Ascaris nigrovenosa*. Zugleich eine Erwiderung gegen Herrn Candidat Mecznikow. Archiv für Anatomie, Physiologie und Wissenschaftliche Medizin, Berlin: 641-658.

LEUCKART, R. (1865). Helminthologische Experimentaluntersuchungen. Vierte Reihe. Nachrichten von der K. Gesellschaft der Wissenschaften und der Georg-Augusts Universität, Göttingen, 8: 219-232.

LEUCKART, R. (1879-1886). Die Parasiten des Menschen und die von ihnen herrührenden Krankheiten. 2nd ed., 2 vols. Winter, Leipzig.

LEVINE, N.D. (1961). Protozoan parasites of domestic animals and of man. Burgess, Minneapolis, Minnesota.

LEVINE, N.D. (1969). Taxonomy of the Sporozoa. Prog. Protozool., Proc. 3rd Int. Cong. Protozool.: 365-367.

LEVINE, N.D. (1971). Taxonomy of the piroplasms. Transactions of the American Microscopical Society, 90: 2-33.

LEVINE, N.D. (1973). Protozoan parasites of domestic animals and of man. 2nd Ed. Burgess, Minneapolis. 406 pp.

LEVINE, N.D. (1982). The genus *Atoxoplasma* (Protozoa, Apicomplexa). J. Parasitol., 68: 719-723.

LEVINE, N.D. (1985). The coccidia. Chapter 1. Introduction, History, and Taxonomy. Edited by Hammond, D.M. and Long P.L. University Park Press. Baltimore and Butterworth and Co. (Publishers) Ltd., London.

LEVINE, N.D., CORLISS, J.O., COX, F.E.G., DEROUX, G., GRAIN, J., HONIGBERG, B.M., LEEDALE, G.F., LOEBLICH, A.R., LOM, J., LYNN, D., MERINFELD, E.G., PAGE, F.C., POLJANSKY, V., SPRAGUE, J., VAVRA, J. and WALLACE, F.G. (The committee on systematics and evolution of the Society of Protozoologists) (1980). A new revised classification of the Protozoa. Protozoology, 27 (1): 37-58.

LEVINE, N.D. (1985). Veterinary Protozoology. Ed. Iowa State University Press. 414 pp.

- LEVINE, N.D. (1984). Nomenclatural corrections and new taxa in the Apicomplexa protozoa. Trans. Am. Microsc. Soc., 103 (2): 195-204.
- LEVINE, N.D. (1988). The protozoan phylum Apicomplexa. Vol I. Ed. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, USA. 203 pp.
- LICHTENFEELS, J.R. (1984). Methods for conserving, storing and studying helminths in the U.S. National Parasite Collection. Systematic Parasitology, 6 (4): 250-251.
- LIEBERKÜHN, N. (1854). Ueber die Psorospermien. Arch. Anat. Physiol., 1: 1-24, 349-368.
- LINDEMANN, K. (1865). Weiteres über Gregarinen. Bull. Soc. Imp. Nat. Moscow, 38 (2): 381-387.
- LINGARD, A. and JENNINGS, E. (1904). A preliminary note on a pyroplasmiasis found in man and some of the lower animals. Indian Med. Gaz., 39: 161-165.
- LINNAEUS, C. (1758, 1767). Systema Naturae. Vol. 1: 10th ed., Salvii, Holmiae, 823 pp.; 12 ed., 1327 pp.
- LINSTOW, O. (1874). Beobachtungen an *Trichodes crassicauda* Bell.. Arch. F. Naturg., 40: 271-286.
- LINSTOW, O. (1909). Parasitische Nematoden. In Brauer's Die Süßwasserfauna Deutschlands. Jena, 15: 47-83.
- LIPSCOMB, D. (1993). Parasitic protozoa. Second Edition. Vol. 1. Chapter 3: The Kingdoms and the Protozoa. Ed. Kreier J.P. and Baker, J.R. Academic Press, INC. U.S.A.
- LIU, S.Y. (1958). On the opalinid ciliate infusorians parasitic in the Formosan anurans. Q. J. Taiwan Mus., 11: 131-145.
- LLUCH, J., ROCA, V. y NAVARRO, P. (1986). Contribución al conocimiento de la helmintofauna de los herpetos ibéricos. III Digenea Paramphistomidae, Hemiuridae, Gorgoderidae, Plagiorchiidae, Haematoloecidae y Cephalogonidae de *Rana perezi* Seoane, 1885 (Amphibia: Ranidae). Revista Ibérica de Parasitología, 46 (4): 387-392.
- LLUCH, J., ROCA, V. y NAVARRO, P. (1986). Helmintofauna de anfibios del Levante Ibérico. Trematodos de *Rana perezi* Seoane, 1885. Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat., (Biol.), 81 (1-4): 43-49
- LLUCH, J., ROCA, V., NAVARRO, P. y MAS-COMA, S. (1987). Helmintofauna de los herpetos ibéricos: estado actual de conocimientos, consideraciones ecológicas y

estimaciones corológicas. En: Mamíferos y Helmintos. Vol. homenaje al Prof. Dr. Herman Kahmann en su 81 aniversario. Ed. Ketres, Barcelona: 143-161.

LLUCH, J., NAVARRO, P. y IZQUIERDO, S. (1990). Sobre la helmintofauna de *Rana temporaria* Linnaeus, 1758 en el Pirineo español. Revista Española de Herpetología: 67-79.

LLUCH, J., NAVARRO, P. Et PÉREZ-SOLER, P. (1991). *Haematoloechus carbonelli* sp. n. (Haematoloechidae: Plagiorchiata) un nouveau Trématode parasite d'Amphibiens de la Péninsule ibérique. Revue Suisse de Zoologie, **98** (2): 255-260.

LOBECK E.A. (1940). *Entamoeba pyrrhogaster* n. sp. with notes on other intestinal amoebae from salamanders. J. Parasitol., **25**: 243- 272.

LOM, J. (1958). A contribution to the sistematics and morphology of endoparasitic Trichodinids from Amphibians, with a proposal of uniform specific characteristics. J. Protozool., **5** (4): 251-263.

LOM, J. (1979). Biology of the trypanosomes and trypanoplasms of fish. In Biology of the Kinetoplastida. Vol 2. Edited by W.H.R. Lumsden and D.A. Evans. Academic Press Incorporated, London, England.

LOM, J and DYKOVÁ, I. (1992). Protozoan parasites of fishes. Developments in Aquaculture and Fisheries Science, Vol. 26. Elsevier.

LÓPEZ-NEYRA, C.R. (1947). Helmintos de los vertebrados ibéricos. Patronato Santiago Ramón y Cajal, C.S.I.C., Granada: 1212 pp.

LÓPEZ-NEYRA, R.P. (1947). Los Capillariinae. Mem. R. Acad. Madrid, **12**: 1-248.

LÓPEZ-NEYRA, R.P. (1947). Generos y especies nuevas y mal conocidas de Capillariinae. Revista Ibérica de Parasitología, **7**: 191-238.

LOOSS, A. (1899). Weitere Beiträge zur Kenntnis der Trematodenfauna Aegyptens, zugleich Versuch einer natürlichen Gliederung des Genus *Distomum* Retzius. Zool. Jahrb. Syst., **12**: 521-784.

LOOSS, A. (1902). Über neue und bekannte Trematoden aus Schildkröten, nobst Erörterung zur Systematik und Nomenklatur. Zool. Jahrb. Syst., **16** (3-6): 411-894.

LOW (1916). Two chronic amoebic dysentery carriers treated by emetine with some remark on the treatment of *Lambli*a, *Blastocystis* and *Entamoeba coli* infections. Journ. trop. Med. and Hyg., **19**: 29.

- LUDWIG, F. W. (1946). Studies on the protozoan fauna of the larva of the crane-fly, *Tipula abdominalis*. I Flagellates, amoebae, and gregarines. Transactions of American Microscopical Society, **65** (3): 189-214 pp.
- LÜHE, M. (1902). Über die Gattung und Bedeutung der Gattungsnamen *Eimeria* und *Coccidium*. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig., **31**: 771.
- LUKIN, E.I. and EPSTEIN, V.M. (1964). On geographical distribution of two Southern Palearctic species of leeches *Batracobdella algira* (Moq.-Tand.) and *Herpobdella stschegolewi* Lukin et Epstein. Zool. Zh. Moscow, **43** (4): 607-609.
- LUN, Z.R. and DESSER, S.S. (1996). Analysis of isolates within species of anuran trypanosomes using random amplified polymorphic DNA. Parasitol. Res., **82** (1): 22-27.
- LWOFF, A. and VALENTINI, A. (1948). Culture du flagellé opalinide *Cepedea dimidiata*. Ann. Inst. Pasteur, **75**: 1-7.
- LYNCH, K.M. (1922). Dauercystformation of *Trichomonas intestinalis*. Journ. of Parasit., **3**: 28.
- LYNN, D.H. and SMALL, E.B. (1985). An illustrated guide to the Protozoa. Subphylum Opalinata and Phylum Ciliophora. Ed. Lee, J.J., Hutner, S. H. and Bovee, E. C. Society of Protozoologists. U.S.A. 629 pp.
- MACHAUX, E. and CHORINE, V. (1933). Les formes jusqu'alors invisibles des spirochètes ne filtrent pas. Bull. Acad. Vet. Fr., **6**: 48-49.
- MACKINNON D.L. (1911). On some Protozoan parasites from Trichoptera. Parasitology, **4**: 28-38.
- MACKINNON, D.L. (1914). Observations on Amoebae from the intestine of the crane-fly larva, *Tipula* sp.. Arch. f. Protist., **32**: 267-277.
- MACKINNON, D.L. (1915). Studies on parasitic Protozoa. III (a) Notes on the Flagellate *Embadomonas*. (b) The multiplication cysts of a Trichomastigine. Quart. J. Micr. Sci., **61**: 105-119.
- MACKINNON D.L. and HAWES R.S.J. (1961). An introduction to the study of Protozoa. Ed. Oxford at the Clarendon Press. Great Britain. 506 pp.
- MADRE, V.E. (1978). The description of some species of the genus *Monocercomonas* Grassi (1879) from reptiles in India. I. Subgenus *Monocercomonas* Krishnamurthy, 1968. Rivista di Parasitologia, **39** (1): 43-53.

- MADRE, V.E. (1979). Two species of flagellates of the genus *Chilomastix* Alexeieff, 1912 (Mastigophora: Retortamonadida) from amphibians and reptiles in India. Acta Protozoologica, 18 (2): 243-249.
- MADRIGAL, M.J., PEDRERO, L. y GONZÁLEZ, P. (1987). Aislamiento de amebas de vida libre en ejemplares de *Rana perezii* de distintos puntos de las Islas Canarias. Revista Ibérica de Parasitología, Vol. Extraordinario: 13-15.
- MADRIGAL, CHAMORRO, L. and PEDRERO, L. (1988). Free-living Amoebas and cold-blooded animals. J. Parasitol., 74 (5): 883-884.
- MADRIGAL, M.J., PEDRERO, L. y CHAMORRO, L. (1987). Aislamiento de amebas de vida libre en ejemplares de *Rana perezii* de distintos puntos de las Islas Canarias. Revista Ibérica de Parasitología, Vol Extraordinario: 13-15.
- MAGGETI, A.R. (1976). Taxonomic position of nematoda among the pseudocoelomate bilateria. The organization of nematodes. Ed. Croll, N.A. Academic Press Inc. London. 1-10.
- MANDL, L. and EHRENBURG, C. G. (1839). Traité pratique du microscope et de son emploi dans l'étude des corps organisés. Ed. Baillière, Paris.
- MANSON, P. (1978). On the development of *Filaria Sanguinis hominis* and on the mosquito considered as a nurse. Trans. Linn. Soc. London (Zod.), 14: 304-311.
- MANWELL R.D. (1982). On the genus *Dactylosoma*. Journal of Protozoology, 11: 526-530.
- MARGOLIS, L., ESCH, G.W., HOLMES, J.C., KURIS, A.M. and SCHAD, G.A. (1982). The use of ecological terms in Parasitology. (Report of a Ad. Hoc. Committee of the American Society of Parasitologists). J. Parasitol., 68: 131-133.
- MARGULIS, L. and SCHWARTZ, K. (1988). Five kingdoms: An illustrated guide to the phyla of life on Earth. 2nd edition. New York: W. H. Freeman Co.
- MARGULIS, L., CORLISS, J.O., MELKONIAN, M., CHAPMAN, D.J., (1990). Handbook of protoctista. Ed. Jones and Bartlett Publishers. USA. 914 pp.
- MARTIN, D.S. and DESSER, S.S. (1991). Development of *Trypanosoma fallis* in the leech, *Deserobdella picta*, in toads (*Bufo americanus*), and in vitro. Parasitol Res, 77: 18-26.
- MARTÍNEZ A.J. and JANITSCHKE K. (1979). Amobenenzephalitis durch *Naegleria* und *Acanthamoeba*. Vergleich und Gegenüberstellung der Organismen und der Erkrankungen. Imm. Infek, 7: 57-64.

- MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, A.R., SIMÓN-VICENTE, F. and CORDERO DEL CAMPILLO, M. (1988). On the morphology of *Opisthodiscus nigrivasis* (V. Mehely, 1929) Odening, 1959 (Trematoda: Paramphistomidae) of *Rana ridibunda*. Revista Ibérica de Parasitología, **48** (1): 9-16.
- MARTÍNEZ-RICA, J.P. (1976). Clima y actividad en animales poiquiloterms. Pub. Cent. Pir. Biol. Exp. Vol. 7. Fasc. II. Jaca.
- MARTÍNEZ-RICA, J.P. (1983). Atlas herpetológico del Pirineo. Munibe, **35** (1-2): 51-60.
- MAS-COMA, S. AND ESTEBAN, J.G. (1985). *Tenoranema alcoveri* g. n., sp. n. (Trichuridae: Capillariinae), a nematode parasitizing *Eliomys quercinus* (Rodetia: Gliridae). Folia Parasitologica, **32** (1): 35-42.
- MATHIS (1913). Recherches des kystes d'Amibes dans les selles de l'Homme. Bull. Soc. Med. Chirurg. de l'Indochine, **4**: 334.
- MATTERN, C.F.T., HONIGBERG, B.M. and DANIEL, W.A. (1972). Structure of *Monocercomonas* sp. as revealed by electron microscopy. J. Protozool., **19** (2): 265-274.
- MATTERN, C.F.T., HONIGBERG, B.M. and DANIEL, W.A. (1973). Fine structural changes associated with pseudocyst formation in *Trichomitus batrachorum*. J. Protozool., **20** (2): 222-229.
- MAUPAS, E. (1879). Sur l'*Haptophrya gigantea*, opaline nouvelle de l'intestin des batraciens anoures d'Algérie. C. R. Acad. Sci., **88**: 921-923.
- MAYER, A.F. I. C. (1843). Spicilegium observationum anatomicarum de organo electrico in Raiis anelectricis et de Haematozois. Bonae.
- MAYER, (1920). Zur Cystenbildung von *Trichomonas muris*. Arch. Protist., **55**: 290.
- McALLISTER, C.T., (1987). Protozoan and Metazoan parasites of the strecker's chorus frog, *Pseudacris streckeri streckeri* (Anura: Hylidae), from North-central Texas. Proceedings of the Helminthological Society of Washinton, **54** (2): 271-274.
- McALLISTER, C.T., (1991). Protozoan, Helminth, and Arthropod parasites of the spotted chorus frog, *Pseudacris clarkii* (Anura: Hylidae), from North-central Texas. J. Helminthol. Soc. Wash., **58** (1): 51-59.

- McALLISTER, C.T., TRAUTH, S.E., UPTON, S.J. and JAMIESON, D.H. (1993). Endoparasites of the bird-voiced treefrog, *Hyla avivoca* (Anura: Hylidae), from Arkansas. J. Helminthol. Soc. Wash., **60** (1): 140-143.
- McALLISTER, C.T., TRAUTH, S.E. and BURSEY, C.R. (1995). Parasites of the pickerel frog, *Rana palustris* (Anura: Ranidae), from the Southern part of its range. The Southwestern Naturalist, **40** (1): 111-115.
- McALLISTER, C.T., UPTON, S.J., TRAUTH, S.E. and BURSEY, C.R. (1995). Parasites of wood frogs, *Rana sylvatica* (Ranidae), from Arkansas, with a description of a new species of Eimeria (Apicomplexa: Eimeriidae). J. Helminthol. Soc. Wash., **62** (2): 143-149.
- McCONNACHIE, E.W. (1960). Experiments on the encystation of *Opalina* in *Rana temporaria*. Parasitology, **50**: 171-181.
- McCLURE, H.M., STROOBERT, E.A. and HEALY, G.R. (1980). *Blastocystis hominis* in a pig-tailed macaque: a potential enteric pathogen for nonhuman primates. Lab. Anim. Sci., **30**: 890-894.
- McDONALD, J.D. (1922). On *Balantidium coli* Malmsten and *Balantidium suis* (sp. nov.). Univ. Calif. Publ. Zool., **20**: 243-300.
- McMULLEN, D.B. (1937). A discussion of the taxonomy of the family Plagiorchiidae Lühe and related trematodes. J. Parasit., **23** (3) 244-258.
- MEDSEN, H. (1951). Notes on the species of *Capillaria* Zeder, 1800. Known from Gallinaceous Birds. Journ. Parasitol., **37** (3): 257-265.
- MEHLHORN, H. (1988). Parasitology in focus. Facts and trends. Springer-Verlag KG, Berlin.
- MEHRA H.R. (1931). On two new species of the genus *Astiotrema* Looss belonging to the family Lepodermatidae Odhner. Parasit., **23**: 170-190.
- MEHRA H.R. (1937). Certain new and already known distomes of the family Lepodermatidae Odhner, with a discussion on the classification of the family. Z. Par., **9** (4): 429- 469.
- MEHRA K.M., LEVINE N.D. and REBER E.F. (1960). The amino acid composition of trichomonad protozoa. J. Protozool., **7** (Supl.): 12.
- METCALF, M.M. (1909). *Opalina*. Its anatomy and reproduction, with a description of infection experiments and a chronological review of the literature. Archiv für Protistenkunde, **13**: 195-375.

- METCALF, M.M. (1918). *Opalina* and the origin of the ciliate Infusoria. J. Wash. Acad. Sci., **8**: 427-431.
- METCALF, M.M. (1920). The classification of the Opalinidae. Science, **52**: 135-136.
- METCALF, M.M. (1921). Geographical distribution of the Anura and their opalinid parasites. Anat. Rec., **20**: 217-218.
- METCALF, M.M. (1923). The opalinid ciliate infusorians. United States National Museum. Bulletin, **120**. Goubernment Printing Office, Washington.
- METCALF, M.M. (1929). Parasites and the aid they give in problems of taxonomy, geographical distribution, and paleogeography. Smithson. Misc. Collect., **81**: 1-36.
- METCALF, M.M. (1940). Further studies on the opalinid ciliate infusorians and their hosts. United States National Museum, **87**: 465-634.
- METCHNIKOFF, I. (1965). Ueber die Entwicklung von *Ascaris nigrovenosa*. Archiv für Anatomie, Physiologie und Wissenschaftliche Medizin, Leipzig: 409-420.
- METCHNIKOFF, I. (1965). On the development of *Ascaris nigrovenosa*. Quarterly Journal of the Microscopical Society of London, **6**: 25-32.
- MIGNOT, J.P. and MOLINA, A. (1988). Etude ultrastructurale de *Protoopalina saturnalis* (Léger et Duboscq, 1904) Metcalf 1918, protiste parasite du poisson marin *Box boops*. Archiv für Protistenkunde, **135**: 255-270.
- MINCHIN, E.A. (1903). The protozoa (continued). Section K. – The Sporozoa. In Lankester, E. R., ed. A treatise on zoology. Black, London, **1** (2): 150-360.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA PESCA Y ALIMENTACIÓN. Mapa de cultivos y aprovechamientos de la provincia de Ávila.
- MISRA, K.K. and NIGRELLI, R.F. (1973). On *Babesiosoma*: Haemosporidia of cold-blooded vertebrates. Acta Protozoologica, **12**: 107-110.
- MISRA, K.K. and CHANDRA, A.K. (1995). *Trypanosoma microhylis* sp. n. from an Indian anuran amphibia. Acta Protozoologica, **34** (4): 303-306.
- MIYATA, A. (1978). Anuran trypanosomes in Kyushu and Ryukyu Islands, with descriptions of six new species. Tropical Medicine, **20** (1): 51-80.
- MIYATA, A., MIYAGI, I. and TSUKAMOTO, M. (1978). Haemoprotozoa detected from the cold-blooded animals in Ryukyu Islands. Tropical Medicine, **20** (2): 97-112.

MIYATA, A. and POON, S.K. (1992). Two new amphibian trypanosomes (Protozoa; Trypanosomatidae) in *Bufo asper* (Amphibia; Bufonidae) from Peninsular Malaysia. Proceedings of the Japanese Society of Systematic Zoology, 47: 1-9.

MIYATA, A. YONG, H.S., HASEGAWA, H. and SYAFRUDDIN (1995). Seven new species of *Trypanosoma* Gruby, 1843 (Protozoa; Trypanosomatidae) detected in various cold-blooded vertebrates. Proceedings of the Japanese Society of Systematic Zoology, 53: 3-17.

MOLAN, A.L., SAEED, I.S. and MIYATA, A. (1989). Haemoprotozoa detected in *Rana ridibunda* in Iraq. Proceedings of the Japanese Society of Systematic Zoology, 40: 3-12.

MOLET, B. and KREMER M. (1976). Techniques d'étude et critères morphologiques pour l'identification des amibes libres. Bulletin de la Société des Sciences Vétérinaires et de Médecine Comparée de Lyon, 78: 215-224.

MOLET, B., WERLER, C., and KREMER, M. (1981). *Blastocystis hominis*: improved axenic cultivation. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 75: 752-753.

MORAVEC, F. (1982). Proposal of a new systematic arrangement of nematodes of the Family Capillariidae. Folia Parasit., 29: 119-132.

MORAVEC, F. and COSGROVE, G.E. (1982). *Pseudocapillaroides xenopi* gen. et sp. nov. from the skin of the South African clawed frog, *Xenopus laevis* Daud. (Nematoda: Capillariidae). Rev. Zool. Afr., 96: 129-137.

MORAVEC, F. and SEY, O. (1985). Some nematode parasites of frogs (*Rana* spp.) from North Viet Nam. Parasit. Hung., 18: 63-77.

MORAVEC, F. (1986). Review of capillariid nematodes (Capillariinae) parasitic in amphibians and reptiles. Part 1. General introduction, genera *Capillaria*, *Aonchotheca* and *Paratrichosoma*. Vest. cs. Spolec. zool., 50: 120-131.

MORAVEC, F. (1986). Review of capillariid nematodes (Capillariinae) parasitic in amphibians and reptiles. Part 2. Genus *Amphibiocapillaria*. Vest. cs. Spolec. zool., 50: 217-230.

MORAVEC, F. (1986). Review of capillariid nematodes (Capillariinae) parasitic in amphibians and reptiles. Part 2. Genera *Amphibiocapillaria*. Vest. cs. Spolec. zool., 50: 217-230.

- MORAVEC, F. (1987). Review of capillariid nematodes (Capillariinae) parasitic in amphibians and reptiles. Part 4. Genus *Pseudocapillarioidea*, species Inquirendae, list of species by host families. Vest. cs. Spolec. zool., **51**: 129-135.
- MORAVEC, F., BARUS, V. and RYSAVÝ, B. (1987). Some parasitic nematodes, excluding heterakidae and Pharyngodonidae, from amphibians and reptiles in egypt. Folia Parasitologica, **34**: 255-267.
- MORAVEC, F. and BARUS, V. (1990). Some nematode parasites from amphibians and reptiles from Zambia and Uganda. Acta Soc. Zool. Bohemoslov., **54**: 177-192.
- MORAVEC, F. and BARUS, V. (1990). Some nematode parasites of frogs from Papua New Guinea and Australia. Acta Soc. Zool. Bohemoslov., **54**: 268-286.
- MORAVEC, F. and KAISER, H. (1994). Description of *Cosmocerca longispicula* sp. nov. (Nematoda: Cosmocercidae), a parasite of a dendrobatid frog from Martinique, French Antilles. Parasitol. Res., **80**: 29-32.
- MORGAN B.B. (1943). Studies on the immobilization-reaction of *Trichomonas foetus* (Protozoa) in cattle. J. Immunol., **47**: 453-460.
- MORGAN B.B. (1946). Bovine Trichomoniasis. Rev. Ed. Burgess, Minneapolis, Minesota.
- MOSKOWITZ, N. (1951). Observations on some intestinal flagellates from reptilian host (Squamata). Journal Morphologie, **89**: 257-321.
- MOULDER, J.W. (1974). The Rickettsias. In Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th Ed., R. E. Buchanan and N. E. Gibbons (eds.). Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland. 882-914.
- MÜLLER, J. (1841). Ueber eine eigenthümliche krankhafte parasitische Bildung mit specifisch organisierten Samenkörperchen. Arch. Anat. Physiol., **1841**: 477-496.
- MÜLLER, O.F. (1773). Vermium Terrestrium et Fluviatilium, seu Animalium Infusorium, Helminthicorum et Testaceorum, non Marinorum, Succincta Historia. Havniae et Lipsiae. 135 pp.
- MÜLLER, O.F. (1786). Animacula Infusoria Fluviatilia et Marina. Havniae et Lipsiae. 367 pp.
- NABIAS, SABRAZES (1892). La filaire du sang des grenouilles. Découverte du male. Bull. Assoc. franç. avancement, **21**: 488-493.

NADAL, J y col. (1968). Trabajos prácticos. Zoología -Cordados. P. Cent. Pir. Biol. Exp. Jaca. Barcelona.

NAGINGTON J., WATSON P.G., PLAYFAIR T.J., MCGILL J., JONES B.R. and STEELE A.D. McG. (1974). Amoebic infection of the eyes. Lancet, 2: 1537-1540.

NANNEY, D.L. (1980). Experimental ciliatology. An introduction to genetic and developmental analysis in Ciliates. Edi. John Wiley and Sons. A Wiley-Interscience Publication. U.S.A. 304 pp.

NARASIMHAMURTI, C.C., SARATCHANDRA, B. (1980). *Monocercomonas (Monocercomonas) waltirensis* n. sp. from the rectum of *Hemidactylus prahadi* Smith. Indian Jour. Parasitol., 4 (2): 217-219.

NAVARRO, P. (1985). Contribución al conocimiento de la helmintofauna de *Natrix maura*. Tesis de Licenciatura. Ciencias Biológicas. Valencia.

NAVARRO, P., HORNERO, M. J., MONTORI, A. y LLUCH, J. (1986). Primeros datos sobre la helmintofauna de *Rana temporaria* Linnaensi, 1758 (Amphibia: Ranidae) en el macizo de Montseny y las estribaciones del Prepirineo Catalán. I Congreso Nacional de Herpetología (Benicàssim). Resúmenes de las comunicaciones: 81.

NAVARRO, P., PÉREZ-SOLER P., IZQUIERDO S., HORNERO M. J. y LLUCH, J. (1987). Sobre la helmintofauna de *Rana ibérica* Boulenger, 1879 del Oeste del Sistema Central. V Congr. Nac. Parasitol. Salamanca: 211.

NAVARRO, P., IZQUIERDO S., PÉREZ-SOLER P., HORNERO M. J. y LLUCH, J. (1988). Contribución al conocimiento de la helmintofauna de los herpetos ibéricos. VIII. Nematoda Ascaridida Skrjabin et Schultz, 1940 de *Rana* spp.. Revista Ibérica de Parasitología, 48 (2): 167-173.

NAVARRO, P., LLUCH, J., PÉREZ-SOLER, P. e IZQUIERDO, S. (1988). Estimaciones respecto a la helmintofauna de *Rana perezi* Seoane, 1885. Revista Española de Herpetología, 3 (1): 69-74.

NAVARRO, P., SORIANO, F., PÉREZ-SOLER, P., GALEANO, M., HUGUET, E. y LLUCH, J. (1991). Helmintofauna de *Bufo bufo gredosicola* Muller et Hellmich, 1935 (Amphibia: Bufonidae) en la Sierra de Gredos del Sistema Central Ibérico (España). I Congr. Int. Asoc. Sudoccid. Europ. Parasitol.: 51.

NEAL R.A. (1966). Advances in parasitology. Volume 4. Chapter 1: Experimental studies on *Entamoeba* with reference to speciation. Ed. Academic Press. London and New York.

- NERESHEIMER, E. (1907). Die Fortpflanzung der Opalinen. Archiv für Protistenkunde, 1 (Suppl.): 1-42.
- NEVEU-LEMAIRE, M. (1936). Traité d'helminthologie médicale et vétérinaire. Paris, 23. 1514 pp.
- NIE, D. (1950). Morphology and taxonomy of intestinal protozoa of the guinea pig *Cavia porcella*. J. Morph., 86: 381-494.
- NIGRELLI, R.F. (1944). Trypanosomes from North American amphibians, with a description of *Trypanosoma grylli* Nigrelli, 1944 from *Acris gryllus* Le Conte. Zoological, 30: 47-56.
- NOBLE E.R. and NOBLE G.A. (1976). Parasitology. 4th edition. Philadelphia, Lea and Febiger: 56.
- NOIROT-TIMOTHÉE, C. (1967). Etude au microscope électronique des inclusions cytoplasmiques de *Cepedea dimidiata* (Protozoa, Opalinina) et plus spécialement des mitochondries ou corps de Zeller. Protistologica, 3: 301-312.
- NÖLLER W. (1912). Über eine neue Schizogonie von *Lankesterella minima* Chaussat. Archiv für Protistenkunde, 24: 201-208.
- NÖLLER W. (1920). Kleine Beobachtungen an parasitischen Protozoen (Zugleich vorläufige Mitteilung über die Befruchtung und Sporogonie von *Lankesterella minima* Chaussat. Archiv für Protistenkunde, 41: 169-189.
- O'DELL W.D. (1979). Isolation, enumeration and identification of amebae from a Nebraska lake. J. Protozool., 26: 265-269.
- ODENING, K. (1955). Über die Parasitenfauna des Wasserfrosches (*Rana esculenta* Linné) in einigen mitteldeutschen Biotopen. Wiss. Z. Friedrich-Schiller Univ. Jena, 4: 487-508.
- ODENING, K. (1959). Die Exkretionssystem von *Omphalometra* und *Brachycoelium* und die Taxonomie der Unterordnung Plagiorchiata. Z. Par., 19 (5): 442-457.
- ODENING, K. (1960). Trematoda, Digenea. Plagiorchiidae III. (Haematoloechinae) und Omphalometridae. Tierreich Lfg. 75-77.
- ODENING, K. (1964). Zur Taxonomie der Trematodenunterordnung Plagiorchiata. Monatschr. Deutsch. Akad. Wiss. Berlin, 6 (3): 191-198.
- ODHNER, T. (1910). Über Distomen, welche den Exkretionsporus als Anus verwenden können. Zool. Anz., 35: 432-433.

OLIVEIRA-RODRIGUES, H., SODRE-RODRIGUES, S. y CRISTOFARO, R. (1973). Contribução para o estudo dos Nematodeos parasitos de *Rana esculeta* L. em Portugal metropolitano. Atas Soc. Biol. R. de J., 16 (1): 21-26.

OLIVEIRA-RODRIGUES, H., SODRE-RODRIGUES, S. y CRISTOFARO, R. (1973). Contribução para o estudo dos Trematodeos parasitos de *Rana esculeta* L. em Portugal metropolitano. Atas Soc. Biol. R. de J., 16 (2-3): 47-52.

OLIVER, J.A. and SHAW, C.E. (1953). The amphibians and reptiles of the Hawaiian islands. Zoologica, 38: 65-95.

OLSEN, O.W. (1977). El parasitismo y los protozoos. Ed. Aedos, Barcelona.

OWEN, R. (1858). Paleontology. In T.S. Traill (ed.), Encyclopedia Britannica, 8th ed., vol. 17. Black, Edinburgh. 91-176.

PAGE, F.C. (1967). Taxonomic criteria for limax amoebae, with descriptions of 3 new species of *Hartmannella* and 3 of *Vahlkampfia*. J. Protozool., 14: 499-521.

PAGE, F.C. (1974). A further study of taxonomic criteria for limax amoebae, with descriptions of new species and a key to genera. Arch. Protistenk., 116: 149-184.

PAGE, F.C. (1976). An illustrated key to freshwater and soil amoebas. Freshwater Bio. Assoc. Sci. Publ. Cumbria.

PAGE, F.C. (1985). The limax amoebae: comparative fine structure of the Hartmannellidae (Lobosea) and further comparisons with the Vahlkampfiidae (Heterolobosea). Protistologica, 21 (3): 361-383.

PAGE, F.C. (1988). A new key to the freshwater and soil Gymnamoebae. Culture Collection of Algae and Protozoa. Cumbria: Freshwater Biological Association.

PAKANDL, M. and PECKA, Z. (1992). A domestic duck as a new host for *Blastocystis* sp. Folia Parasitol., 39: 59-60.

PANDE, B.P. (1937). On some digenetic trematodes from *Rana cyanophlyctis* of Mumaon Hill. Proc. Ind. Acad. Sc., 6 (2) 109-120.

PARIS, M.G., MARTÍN, C., DORDA, J. y ESTEBAN, M. (1989). Los anfibios y reptiles de Madrid. Ed. Comunidad de Madrid. España.

PATTERSON, D.J. (1985). The fine structure of *Opalina ranarum* (family Opalinidae): Opalinid phylogeny and classification. Protistologica, 21: 413-428 (dated 1985).

PATTERSON, D.J. (1989). Stramenopiles: Chromophytes from a protistan perspective. In The Chromophyte Algae: Problems and Perspectives (J. C. Green, B.S.C. Leadbeater, and W. I. Diver, eds.), pp 357-379. Clarendon Press, Oxford.

PAVLOV, A.V. (1955). Biologiya nematody *Hepaticola hepatica* i osobennosti epizootologii vyzyvayemogo eyu zabolevaniya (Biology of the nematode *Hepaticola hepatica* and features of epizootiology of the disease caused by it). Author's Summary of Thesis.

PEARSE, A.S. (American Association for the Advancement of Science) (1936). Zoological names. A list of Phyla, Classes and Orders. Duke Univ. Press. Durham.

PELLÉRDY, L.P. (1974). Coccidia and Coccidiosis. Second revised edition. Verlag Paul Parey. Berlin und Hamburg. 959 pp.

PEREIRA, C. and CUOCOLO, R. (1940). Trematoides vesicales de anfíbios do Nordeste Brasileiro. Ibidem, 11: 413-420.

PERRONCITO, A. (1899). Giorn. Acad. Med. Torino, 5: 36-38.

PERTY, M. (1852). Zur Kenntniss Kleinster Lebensformen nach Bau, Funktionen, Systematik, mit Specialverzeichniss der in der Schweiz beobachteten. Jent & Reinert, Bern. 228 pp.

PFEIFFER, L. (1890). Vergleichende Untersuchungen über Schwärmosporen und Dauersporen bei den Coccidieninfektionen und bei Intermittens. Fortschr. Med., 8: 939-951.

PFEIFFER, L. (1891). Die Protozoen als Krankheitserreger. 2nd ed. Fischer, Jena.

PFEIFFER, R. (1892). Beiträge zur Protozoenforschung. I. Die Coccidienkrankheit der Kaninchen. Berlin.

PIGULEWSKY, S.W. (1946). Deux nouvelles espèces du genre *Gorgodera*. Ann. Par., 20 (5-6): 284-287.

PIKE, A.W. (1979). Helminth parasites of the amphibians *Dicroglossus occipitalis* and *Bufo regularis* in Khartoum, Republic of Sudan. J. Nat. Hist., 13: 337-376.

PITELKA, D.R. (1956). An electron microscope study of cortical structures of *Opalina obtrigonoidea*. J. Biophys. Biochem. Cytol., 2: 423-432.

POCHE, F. (1913). Das System der Protozoa. Archiv für Protistenkunde, 30, 125-321.

POISSON, R. (1953). Sous-embranchement des Cnidosporidie. En Grassé, P-P. (ed.), Traité de Zoologie, T. I, Fasc. II. Masson. Paris.

PORTA, A. (1912). Ricerche sul ciclo evolutivo della *Filaria rubella* Rud.. Zool. Anz., **39**: 202-205.

POYNTON, S.L. and WHITAKER, B.R. (1994). Protozoa in poison dart frogs (Dendrobatidae); clinical assessment and identification. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, **25** (1): 29-39.

PROWAZEK, S. (1904). Untersuchungen über einige parasitische flagellaten. Arb. Kais. Gesundheitsamte, **21**: 1-39. (1908, 1911, 1912, 1914).

PROWAZEK, S. (1908). Studien ueder biologie der Zellen. Biol. Centralbl., **28**: 352.

PROWAZEK, S. (1911). Zur Kenntniss der Flagellaten des Darmtrakts. Arch. Protistenk., **23**: 96.

PROWAZEK, S. (1912). Beiträge zur Kenntniss der Protozoen und verwandter Organismen von Sumatra (Deli). 2. Darmflagellaten. Ibid., **26**: 253.

PROWAZEK, S. (1914). Untersuchungen über einige parasitische flagellaten. Arb. Kais. Gesundheitsamte, **21**: 1-39.

PRUDHOE, S. and BRAY, R.A. (1982). Platyhelminthes parasites of the amphibia. Dpt. Zoology, British Museum (Natural History). Oxford University Press. Ed. Spottiswoode Ballantyne Ltd., Colchester and London. Great Britain. 217 pp.

PURKINJE, J.E. and VALENTIN, G. (1835). De phaenomeno generali et fundamentali motus vibratorii continui in membranis cum externis tum internis animalium plurimorum et superiorum et inferiorum ordinum obvii. Commentat. Physiol. Opera Omnia (Wratislaviae), **1**: 277-371.

PUSSARD, M. and PONS, R. (1977). Morphologie de la paroi kystique et taxonomie du genre *Acanthamoeba* (Protozoa, Amoebida). Protistologica, **13**: 557-598.

PUYLAERT, F.A. (1970). Description de *Chitwoodchabaudia skrjabini* g. n., sp. n., (Chitwoodchabaudiidae fam. Nov.) parasite de *Xenopus laevis victorinus* Ahl. (Cosmocercoidea – Nematoda - Vermes). Rev. Zool. Bot. Afr., **81**: 369-382.

PUYTORAC, P., & OKTEM, N. (1967). Observations cytologiques sur les nyctothères des genres *Nyctotherus* Leidy et *Proscicuophora* n. gen., ciliés parasites de batraciens anoues du Gabon. Biol. Gabon., **3**: 223-243.

PUYTORAC, P., GRAIN, J. BATISSE, A., BOHATIER, J., CORLISS, J.O., DEROUX, G., DIDIER, P., DRAGESCO, J., FRYD-VERSAVEL, G., GRAIN, J., GROLIÈRE, C-A., HOVASSE, R., IFTODE, F., LAVAL, M., ROQUE, M., SAVOIE, A. et TUFFRAU, M. (1974). Proposition d'une classification du phylum Ciliophora Doflein, 1901 (Réunion de systematique, Clermont-Ferrand). C. R. Acad. Sci., Paris, 278 D: 2799- 2802.

PUYTORAC, P., GRAIN, J. et MIGNOT, J. P. (1987). Précis de Protistologie. Ed. Société Nouvelle des Éditions Boubée. 581 pp.

QUENNERSTEDT, A. (1865). Bidrag till Sveriges Infusorie-fauna jemte en kort framställning af Infusionsdjurens organisation. I. Lunds Universitets Ars-Skrift, Matematik och Naturvetenskap (Acta Universitatis Lundensis), 2: 1-64.

RAABE, Z. (1948). Próba rewizji systemu pierwotniaków . An attempt of a revision of the system of Protozoa. Ann. Univers. Mariae Curie-Sklodowska. Lublin. Sec. C, 3: 259-276.

RAABE, Z. (1950). Uwagi o Urceolariidae (Ciliata – Peritricha) skrzyl ryb. Ann. Univers. Mariae Curie-Sklodowska. Lublin, 5: 292-310.

RAABE, Z. (1964). Remarks on the principles and outline of the system of Protozoa. Acta protozool., 2: 1-18.

RAILLIET, A. (1893-1895). Traité de Zoologie médicale et agricole, 2. Éme éd., 303 pp.

RAILLIET, A. (1915). L'emploi des médicaments dans la traitement des maladies causées par des Nématodes (Rapport présenté au Congrès international vétérinaire de Londres, 1914). Rec. Méd. Vétér., 92: 490.

RAILLIET, A. (1916). Sur les Filaires de Batraciens. Bull. Soc. Pathol. Exot., 9 (3): 137-140.

RAILLIET, A. and HENRY, A. (1916). Sur les Oxyurides. C. R. Soc. Biol., 79 (33): 113-115.

REICHENOW, E. (1952). II. Teil. Spezielle Naturgeschichte der Protozoen. 1. Hälfte: Mastigophoren und Rhizopoden. In Lehrbuch der Protozoenkunde, (F. Doflein and E. Reichenow, eds.), Fisher, Jena., 6th ed.: 409-776.

REICHENOW, E. (1953). In Lehrbuch der Protozoenkunde (F. Doflein and E. Reichenow, eds.), Fisher, Jena. Vol. 2, N° 2: 949-966.

- REMAK, R. (1845). Diagnostische und pathogenetische Untersuchungen in der Klinik des Herrn Geh. Rath. Dr. Schönlein. Berlin.
- REULING, F. and RODENWALDT, E. (1921). Giardia-Lambia?. Arch. Protistenkd., 42: 337-346.
- RICHARDS, C.S. (1968). Two new species of *Hartmannella* infecting freshwater mollusks. J. Protozool., 15: 651-656.
- RIVAS-MARTÍNEZ, S. (1975). Mapa de vegetación de la provincia de Ávila. Anales del Instituto Botánico Cavanilles. 32 (2): 1493-1552.
- RODRIGUES, H.O., RODRIGUES, S.S. and CRISTOFARO, R. (1972). Contribuição para o estudo dos nematódeos parasitos de *Rana esculenta* L. en Portugal metropolitano. Atas Soc. Biol. Rio de Janeiro, 16: 21-26.
- ROUSSELOT, R. (1953). Notes de Parasitologie tropicale. Vol I and II. Vigot Frères, Paris.
- RUDOLPHI, A.C. (1803). Neue Beobachtungen über die Eingeweidewürmer. Arch. Zool. u. Zoot. Hrsg. V. Wiedemann Braunschweig, 3: 1-32.
- RUDOLPHI, C.A. (1819). Entozoorum synopsis cui accedunt mantissa duplex et indices locupletissimi. Beroline, 10, 811 pp.
- SALVADOR, A. (1972). Guía de campo de los anfibios y reptiles españoles. Madrid (ICONA). 244 pp.
- SALVADOR, A. (1985). Guía de campo de los anfibios y reptiles de la Península Ibérica, Islas Baleares y Canarias. Unigraf, S.A., Madrid.
- SAMUELS, R. (1941). The morfology and division of *Trichomonas augusta* Alexeieff. Transactions of the American Microscopical Society, 60: 421.
- SAMUELS, R. (1959). Studies of *Tritrichomonas batrachorum* 3. Abnormal mitosis and morphogenesis. Transactions of the American Microscopical Society, 78: 49-65.
- SANDON, H. (1976). The species problem in the opalinids (Protozoa: Opalinata), with special reference to *Protoopalina*. Trans. Am. Microsc. Soc., 95: 357-366.
- SCHAUDINN, F. and SIEDLECZKY, M (1897). Beiträge zur Kenntnis der Coccidien. Verh. Dtsch. Zool. Ges. 102.

- SCHAUDINN, F. (1899). Über zwei neue Infusorien im Darne des Menschen. Von M. Jakoby und F. Schaudinn. Centralbl. F. Bakteriologie u. Parasitenkunde. Bd. 25. 488 pp.
- SCHAUDINN, F. (1900). Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. Zool. Jahr. Anat. Ontog., **13**: 197-287.
- SCHAUDINN, F. (1903). Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. T. 19: 597.
- SCHNEIDER, A. (1875). Note sur les rapports des psorospermies oviformes aux véritables grégaires. Arch. Zool. Exp. Gén. 4 Notes et Revues.
- SHELL, S.C. (1970). The Trematodes. Ed. Wm. C. Brown Company Publishers. Library of Congress Catalog Card Number 70-89537. United States of America.
- SCHEWIAKOFF, W. (1896). Organization and classification of the Infusoria Aspirotricha (*Holotricha auctorum*). Mem. Acad. Imp. Sci. St-Petersbourg Cl. Phys. Math. 8s., 4: 1-395.
- SCHMIDT, G.D. and ROBERTS, L.S. (1989). Foundations of parasitology. Fourth edition. Ed. Times Mirror/Mosby College Publishing. U.S.A.
- SCHRANK, F.P. (1790). Verzeichnis einiger noch unbeschriebener Eingeweidewürmer. K. Schwedische Akad. D. Wiss., **2**: 111-122.
- SCHORR, M.S., ALTIG, R. and DIEHL, W.J. (1990). Populational changes of the enteric protozoans *Opalina* spp. and *Nyctotherus cordiformis* during the ontogeny of anuran tadpoles. J. Protozool., **37** (6): 479-481.
- SCHUBERG, A. (1892). Über Coccidien des Mäusedarmes. S.-B. Phys.-Med. Ges. Würzb: 65.
- SCHUMAN, S.S. (1964). Evolution and phylogeny of Myxosporidia. Ed. Nauka, Leningrand.
- SCHWEIER (1900). Infusorios ciliados parásitos (endoparásitos). (En ruso). Arbeiten der St. Petersburger naturf. Gesellschaft, T. 28, N°4.
- SCOTT-MACFIE (1915). A case of dysentery in a monkey, in which Amoebae and Spirochaetes were found. Ann. trop. Med. and Parasit., **9**: 507.
- SEURAT, L.G. (1917). Filaires des Reptiles et Batrachiens. Bull. Soc. histoire natur. Afr. Nord, **8** (9): 236-242.

SHETE, S.G. and KRISHNAMURTHY, R. (1984). Observations on the rectal ciliates of the genus *Balantidium*, Claparede and Lachmann, 1858 from Indian Amphibians *Rana tigrina* and *R. cyanophlyctis*. Archiv für Protistenkunde, **128**: 179-194.

SIMITZIS-LE FLOHIC A.M. and CHASTEL C. (1982). Les petits mammifères sauvages: vecteurs d'amibes libres?. Med. Trop., **42**: 275-279.

SIMÓN-VICENTE, F., MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, A. and CORDERO DEL CAMPILLO, M. (1974). Some observations on the redia, cercaria and metacercaria of *Opisthodiscus nigrivasis* (V. Mehlij, 1929) Odening, 1959 (Trematoda: Paramphistomatidae). J. Helminthol., **48**: 187-193.

SINGH S.N. (1958). On an interesting new nematode *Velariocephalus trilokaie* gen. et sp. nov. from an Indian frog, and a new subfamily Velariocephalinae (Cosmocercidae). J. Helminthol., **32** (4): 259-266.

SINGH B.N. and HANUMAIAH V. (1979). Studies on pathogenic and non-pathogenic amoebae and the bearing of nuclear division and locomotive form and behaviour on the classification of the order Amoebida. Monograph N° 1, Association of Microbiologists of India, Ind. J. Microbiol.: 1-80.

SINGH B.N. (1975). Pathogenic and non-pathogenic amoebae. New York, John Wiley and sons.

SINGH, M., SURESH, K., HO, L.C., NG, G.C. and YAP, E.H. (1995). Elucidation of the cycle of the intestinal protozoan *Blastocystis hominis*. Parasitol Res, **81**: 446-450.

SKARBILOVICH, T.S. (1946). K poznaniyu gel'mintofauny rukokrylykh SSSR (Contribution to the study of the Helminthic fauna of Chiroptera in the USSR). Sbornik rabot po gel'mintologii, posvyashchenniy akademiku K. I. Skryabinu: 235-244.

SKRJABIN, K.I. and SHIKHOBALOVA, N.P. (1937). Otryad Filariata Skrjabin, 1915 (Order Filariata Skrjabin, 1915). In: Gel'mintozv krupnogo rogatogo skota i ego molodnyaka, Moskva, Sel'khozgiz. 576-582 pp.

SKRJABIN, K.I. (1939). Thominksoz legkikh – novyi gel'mintoz cheloveka (Thominxiasis of lungs – A new helminthiasis of man). Meditinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni, **8** (4): 167-170.

SKRJABIN, K.I. (1947-64). Trematodes of animals and man. Moskow, Vol. 1-22.

SKRJABIN, K.I. and SHIKHOBALOVA, N.P. (1948). Filyarii zhivotnykh i cheloveka (Filariata of Animals and Man). Sel'khozgiz. 608 pp.

- SKRJABIN, K.I., SHIKHOBALOVA, N.P., SOBOLEV, A.A., PARAMONOV, A.A. and SUDARIKOV, V.E. (1954). Opredelitel' paraziticheskikh nematod, t.4 (Kamallanaty, Rabditaty, Trikhosefalyaty i Dioktofimaty) (Key to Parasitic Nematodes, Vol. 4 (Camallanata, Rhabditidata, Trichocephalata, and Diocrophymata)). Moskva, Izd. AN SSSR.
- SKRJABIN, K.I., SHIKHOBALOVA, N.P. and ORLOV, I.V. (1957). Essentials of Nematodology. Trichocephalidae and Capillariidae of Animals and man and the disease caused by them. Vol VI. Academy of Sciences of the USSR. Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 1970. 599 pp.
- SKRJABIN, K.I. and ANTIPIN, D.N. (1959). Superfamily Plagiorchioidea Dollfus, 1930. Ibidem, 14: 73-631.
- SKRJABIN, K.I., SHIKHOBALOVA, N.P. and MOZGOV, A.A. (1961). Opredelitel' paraziticheskikh namatod, t. 2. Oksiuraty i Askaridaty (Key to Parasitic Nematodes, Vol. 2. Oxyurata and Ascaridata). Izd. AN SSSR.
- SKRJABIN, K.I., SHIKHOBALOVA, N.P. and LAGODOVSKAYA, E.A. (1961). Essentials of Nematodology. Oxyurata of Animals and Man. Part two, Vol. 10. Academy of Sciences of the USSR. Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 1974. 460 pp.
- SKRJABIN, K.I. (1964). Keys to the Trematodes of animals and man. Ed. Hisao P. Arai. University of Alberta, Calgary and Center for Zoonoses Research, University of Illinois.
- SLEIGH, M.A. (1979). Biología de los protozoos. H. Blume Ediciones, Madrid.
- SLEIGH, M.A. (1989). Protozoa and other protists. Ed. Edward Arnold, London.
- SMALL, E.B. (1976). A proposed subphyletic division of the phylum Ciliophora Doflein, 1901. Trans. Amer. Micros. Soc., 95: 739-751.
- SMALL, E.B. and LYNN, D.H. (1981). A new macrosystem for the phylum Ciliophora Doflein, 1901. Bio Systems, 14: 387- 401.
- SMYTH, J.D. and SMYTH, M.M. (1980). Frogs as host-parasite system. I. Ed. The Macmillan Press L.T.D. London.
- SOKAL, R.R., RHOLF, F.S. (1979). Biometria: Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica. Ed. Blume. Madrid. 832 pp.

SONIN, M.D. (1962). Nematody roda *Diplotriaeana* ot ptits Sovetskogo Soyuza (Nematodes of the Genus *Diplotriaeana* of Birds in the Soviet Union). Trudy Gelan, 12: 139-165.

SONIN, M.D. (1963). Perestroika sistemy nematod podotryada Filariata Skrjabin, 1915 (Revision of the Classification of the Suborder Filariata Skrjabin, 1915). Helminthologia, 4 (1-4): 485-494.

SONIN, M.D. (1966). Osnovy nematologii. Filyariaty zhivotnykh i cheloveka i vyzyvaemye imi zabolevaniya. Chast'1. Aproktoidei (Essentials of Nematodology. Filariata of animals and man and the diseases caused by them. Part 1. Aproctoidea). Izdatel'stvo Nauka, 17: 1-358.

SONIN, M.D. (1968). Filariata of animals and man and diseases caused by them. Part two, Vol. 21. Academy of Sciences of the USSR. Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 1975. 411 pp.

SOULSBY, E.J.L. (1868). Helminths, Arthropods and Protozoa of domesticated animals. 6th ed. Baillière, Tindall and Cassell, London.

SPIELER, M. and SCHIERENBERG, E. (1995) On the development of the alternating free-living and parasitic generation of the nematode *Rhabdias bufonis*. Invertebrate Reproduction and Development, 28 (3): 193-203.

SPREHN, C. (1932). Lehrbuch der Helminthologie. Berlin, 998 pp.

STABLER, R.M. and CHEN, T.T. (1936). Observations on an *Endamoeba* parasitizing opalinid ciliates. Biol. Bull., 70: 56-71.

STEBBINS, J.H., JR. (1904). Upon the occurrence of haemosporidia in the blood of *Rana catesbeiana*, with an account of their probable life history. Trans. Am. Microsc. Soc., 25: 55-62.

STEIN, F. (1859; read in 1856). Über die ihm bisher bekannt gewordenen und von ihm genauer erforschten Infusionsthier, welche im Inneren anderer Thiere eine parasitische Lebensweise führen, und erläuterte den Bau derselben durch Zeichnungen. Abh. Königlichen Böhmisches Ges. Wiss., 10: 35-38.

STEIN, F. (1860). Über die Eintheilung der holotrichen Infusionsthier und stellte einige neue Gattungen und Arten aus dieser Ordnung auf. Sitzungsber. Königlichen Böhmisches Ges. Wiss. Sect. Prague Juli-December: 56-62.

STEIN, F. (1867). Der Organismus der Infusionsthier nach eigenen Forschungen in Systematischer Reihenfolge bearbeitet. II. Abtheilung. 1) Darstellung der neuesten

Forschungsergebnisse über Bau, Fortpflanzung und Entwicklung der Infusionsthier. 2) Naturgeschichte der heterotrichen Infusorien Wilhelm Engelmann, Leipzig. 355 pp.

STENZEL, D.J. and BOREHAM, P.F.L. (1991). A cyst-like stage of *Blastocystis hominis*. Int. J. Parasitol., 21: 613-615.

STENZEL, D.J. and BOREHAM, P.F.L. (1996). *Blastocystis hominis* revisited. Clinical Microbiology Reviews, Oct: 563-584.

STILES, C.W. (1902). The type species of certain genera of parasitic flagellates, particularly Grassi's genera of 1879 and 1881. Zool. Anz., 25: 689-695.

STILES, C.W. and HASSAIL. Index-Catalogue of Medical and Veterinary Zoology. Ed. United States Public Health Service, Washington.

SWEZY, O. (1915). Binary and multiple fission in *Hexamitus*. Univ. Calif. Publ. Zool., 16: 71-88.

SWEZY, O. (1916). The genera *Monocercomonas* and *Polymastix*. Univ. Calif. Publ. Zool., 16: 185-240.

SWELLENGREBEL (1917). Über die Cystenbildung des *Chilomastix mesnili*. Arch. Protistk., 38: 89.

TEN KATE, C.G.B. (1927). Über das Fibrillensystem der Ciliaten. Archiv für Protistenkunde, 57: 362-426.

TEOW, W.L., ZAMAN, V., NG, G.C., CHAN, Y.C., YAP, E.H., HOWE, J., GOPALAKRISHNAKONE, P. and SINGH, M. (1991). A *Blastocystis* species from the sea-snake, *Lapemis hardwickii* (Serpentes: Hydrophiidae). International Journal for Parasitology, 21 (6): 723-726.

TEOW, W.L., NG, G.C., CHAN, P.P., CHAN, Y.C., V., YAP, ZAMAN, and SINGH, M. (1992). A survey of *Blastocystis* in reptiles. Parasitol Res, 78: 453-455.

TRAVASSOS, L. (1915). Contribuições para o conhecimento da fauna helminthológica brasileira. Sobre as espécies brasileiras do genero *Capillaria* Zeder, 1800. Mem. Inst. Osw. Cruz, 7 (2): 146-172.

TRAVASSOS, L. (1919). Esboço de uma chave geral dos nematodeos parasitos. Rev. Vet. Zool., 10: 59-70.

TRAVASSOS, L. (1922). Informações para o conhecimento da fauna helminthológica brasileira. XVII. Gorgoderidae brasileiras. Mem. Inst. Osw. Cruz, 15: 220-234.

TRAVASSOS, L. (1925). Contribuições para o conhecimento da fauna helminthologica dos batráquios do Brasil. Trab. Inst. Osw. Cruz, Serv. San. Bur. Est. Rev.: 1-17.

TRAVASSOS, L. (1930). Pesquisas helmintologicas realizadas em Hamburgo. IV. Notas sobre o gênero *Opisthioglyphe* Looss, 1899 e gêneros proximos. Mem. Inst. Osw. Cruz, **24** (1): 1-17.

TRAVASSOS, L. (1930). Note préliminaire sur les Cosmocercidae d'Europe. C. R. Soc. Biol., **107**: 175-176.

TRAVASSOS, L. (1931). Pesquisas helminthologicas realizadas em Hamburgo. IX. Ensaio monographico da familia Cosmocercidae Travassos, 1925. Mem. Inst. O. Cruz, **25** (3): 237-298.

TRAVASSOS, L. (1932). Sobre dois parasitos de batráquios de Portugal. Boletim Biol. R. de Jan., **21**: 61-64.

TRAVIS, B.V. (1932). A discussion of synonymy in the nomenclature of certain insect flagellates, with the description of a new flagellate from the larvae of *Ligyrodus relictus* Say (Coleoptera: Scarabeidae). Iowa St. Coll. J. Sci., **6**: 317-323.

TRIPATHI, Y.R. (1948). A new species of ciliate *Trichodina branchicola* from some fishes at Plymouth. J. Marine Biol. Assoc. United Kingdom, **27**: 440-450.

TRUSELL R.E. (1947). *Trichomonas vaginalis* and trichomoniasis. Thomas, Springfield, Illinois.

TSE, B., BARTA, J.R. and DESSER, S.S. (1986). Comparative ultrastructural features of the sporozoite of *Lankesterella minima* (Apicomplexa) in its anuran host and leech vector. Can. J. Zool., **64**: 2344-2347.

UPTON, S.J. and McALLISTER, C.T. (1987). The coccidia (Apicomplexa: Eimeriidae) of anura, with descriptions of four new species. Can. J. Zool., **66**: 1822-1830.

UZMANN, J.R. and STICKNEY, A.P. (1954). *Trichodina myicola* n. sp., a peritrichous ciliate from the marine bivalve *Mya arenaria* L.. J. Protozool., **1**: 149-155.

UZZELL, T. (1982). Immunological relationship of western palearctic water frogs (Salientia: Ranidae). Amphibia-Reptilia, **3** (2/3): 135-143.

VALENTIN, G.G. (1841). Ueber einen Entozoon im Blute von *Salmo fario*. Arch. Anat., Physiol. und Wiss. Med. 435-436.

- VAN AS, J.G. and BASSON, L. (1989). A further contribution to the taxonomy of the family Trichodinidae (Ciliophora: Peritrichida) and a review of the taxonomic status of some fish ectoparasitic trichodinids. Systematic Parasitology, 14: 157-179.
- VAN OVERBEEK DE MEYER, G.A.W. (1929). Beiträge zu Wachstums -und Plasmadifferenzierungs- Erscheinungen an *Opalina ranarum*. Archiv für Protistenkunde, 66: 207-284.
- VIDIGAL, D. (1942). *Eutrichomastix* Kofoid e Swezy, considerações em torno do género. Descrição do *Eutrichomastix vital-brasili* n. sp. (family Trichomonadida). Boll. Indust. Animal, San Paulo, 6: 30-34.
- VOGT, C. (1842). Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Filarien. Arch. Anat., Physiol. und Wiss. Med.: 189.
- WALLACE, F.G. (1956). Cultivation of *Trypanosoma ranarum* on a liquid medium. The Journal of Protozoology, 3 (2): 47-49.
- WALTON, A.C. (1964). The parasites of Amphibia. Wildl. Dis., 39: 40 (microcard publication).
- WARD, H.B. (1917). On the structure and classification of North American parasitic worms. J. Par., 4 (1): 1-12.
- WARTON, A. and HONIGBERG, B.M. (1979). Structure of trichomonads as revealed by scanning electron microscopy. J. Protozool., 26 (1): 52-56.
- WENRICH, D.H. (1932). The relation of the protozoan flagellate *Retortamonas grylotalpae* (Grassi, 1879) Stiles, 1902, to the species of the genus *Embadomonas* Mackinnon, 1911. Trans Amer. Micr. Soc., 51: 225-238.
- WENRY, D.H. (1947). Culture experiments on intestinal flagellates. III. Species from amphibians and reptiles. J. Parasitol., 33: 62-70.
- WENYON, C.M. (1910). A new Flagellate (*Macrostoma mesnili* n. sp.) from the human intestine with some remarks on the supposed cysts of *Trichomonas*. Parasitology, 3: 210.
- WENYON, C.M. (1915). Observations on the common intestinal protozoa of man, their diagnosis and pathogenicity. Lancet. T. II, 1173 pp.
- WENYON, C.M. and O'CONNOR, F.W. (1917). Human intestinal Protozoa in the Near East. London.
- WENYON, C.M. (1920). Observations on the intestinal protozoa of three egyptian lizards, with a note on a cell-invading fungus. Parasitology, 7: 350.

WENYON, C.M. (1926). Protozoology. A manual for medical men, veterinarians and zoologists. Tomo I and II. Volumen I and II. Ed. Baillière, Tindall and Cox. Great Britain. 1563 pp.

WERNER, J. (1993). Blood parasites of amphibians from Sichuan province, People's Republic of China. J. Parasitol., **79** (3): 356-363.

WESSENBERG, H.S. (1961). Studies on the life cycle and morphogenesis of *Opalina*. Univ. Calif. Publ. Zool., **61**: 315-369.

WESSENBERG, H.S. (1978). Parasitic protozoa. Vol. 2. Chapter 7, Opalinata (551-581). Ed. Kreier, J. P. Academic Press, INC. U.S.A.

WESTRUMB, A.H.L. (1821). De helminthibus acanthocephalis Commentatio histotico-anatomica adnexorecensu animalium in Museo Vindobonensi circa helminthes dissectorum et singularum specierum harum in illis repertarum. Hanoverae.

WHITTAKER, R.H., (1957). The kingdoms of the living world. Ecology, **38**: 536-538.

WHITTAKER, R.H., (1969). New concepts of kingdoms of organisms. Science, **163**: 150-160.

WHITTINGTON M.J. (1951). The survival of *Trichomonas vaginalis* at temperatures below +37°C. J. Hyg., **49**: 400-409.

WILBERT, N. and SCHMEIER, U. (1982). Survey of the intestinal opalines and ciliates in Central European Amphibians. Arch. Protistenk., **125**: 271-285.

WILLIAMS, M.O. and COKER (1967). Two new trematodes from *Petropedates natator* Baulenger in Sierra Leone. J. Helm., **41** (2-3): 277-284.

WILSON, D.E., BOVEE E.C., BOVEE G.J. and TELFORD S.R. (1967). Induction of amebiasis in tissues of white mice and rats by subcutaneous inoculation of small free-living, inquiline and parasitic amebas with associated coliform bacteria. Exp. Parasitol., **21**: 277-286.

WOLSKA, J. and SIUCIAK, J. (1964). Parasitic protozoa of alimentary tract of *Rana temporaria* during its life cycle. Acta Parasitologica Polonica, **12** (27): 303-307.

WOO, P.T.K. (1969). Trypanosomes in amphibians and reptiles in southern Ontario. Can. J. Zool., **47**: 981-988.

YAMADA, M., YOSHIKAWA, H., TEGOSHI, T., MATSUMOTO, AND., YOSHIKAWA, T. SHIOTA, T. and YOSHIDA, AND. (1987). Light microscopical study of *Blastocystis* spp. In monkeys and fowls. Parasitol. Res. **73**: 527-531.

YAMADA, M., MATSUMOTO, Y., TEGOSHI, T., YOSHIDA, Y. (1987). The prevalence of *Blastocystis hominis* infection in humans in Kyoto City. Jpn. J. Trop. Med. Hyg., **15**: 158-159.

YAMAGUTI, S. (1961). Systema Helminthum. Vol. III. The nematodes of vertebrates Part I et II. 1261pp. Ed. Interscience Publishers LTD.

YAMAGUTI, S. (1971). Syopsis of Digenetic Trematodes of the Vertebrate. Ed. Keigaku publishing Co., Ltd., Tokio, Japon. 536 pp.

YAMAGUTY, S. (1975). A synoptical review of life histories of Digenetic Trematodes of vertebrates Ed. Yugaku-Sha. Ltd.

YORKE, W. and MAPLESTONE, P.A. (1926). The nematode parasites of vertebrates. London.

ZAMAN, V., NG, G.C., SURESH, K., YAP, E.H., SINGH, M. (1993). Isolation of *Blastocystis* from the cockroach (Dictyoptera: Blattidae). Parasitol. Res., **79**: 73-74.

ZAMAN, V. (1996). The diagnosis of *Blastocystis hominis* cysts in human faeces. Journal of Infection, **33**: 15-16.

ZAPATERO, L.M. and CASTAÑO, C. (1984). Técnica de impregnación argéntica para frotis fecales. Rev. Iber. Parasitol., **44** (4): 453-460.

ZEDER, J.G.H. (1800). Erster Nachtrag zur Naturgeschichte der Eingeweidewürmer mit Zusätzen und Anmerkungen herausgegeben. Leipzig, 20: 320 pp.

ZELLER, E. (1877). Untersuchungen über die Fortpflanzung und die Entwicklung [sic] der in unseren Batrachiern schmarotzenden Opalinen. Z. Wiss. zool., **29**: 352-379.

ZIERDT, C.H., RUDE, W.S. AND BULL, B.S. (1967). Protozoan characteristics of *Blastocystis hominis*. Am. J. Clin. Pathool., **48**: 495-501.

ZIERDT, C.H. (1973). Studies of *Blastocystis hominis*. J. Protozool., **20**: 114-121.

ZIERDT, C.H. (1978). *Blastocystis hominis*, an intestinal protozoan parasite of man. Public Health Labb., **36**: 147-160.

ZIERDT, C.H. (1988). *Blastocystis hominis*, a long-misunderstood intestinal parasite. Parasitology Today, **4** (1): 15-17.

ZIERDT, C.H. (1993). Taxonomic status of *Blastocystis hominis*: reply. Parasitology Today, 9 (1): 18.

ZWART, P., TEUNIS, S.F.M. and CORNELISSEN, J.M.M. (1984). Monocercomoniasis in reptiles. Journal of Zoo Animal Medicine, 15 (3): 129-134.